

ISSN

0494-7304

0375-9520



ТАРТУСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

РЕАКЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

ТОМ XXIII
ВЫП. 3(83)
Сентябрь 1986

ТАРТУ

ТАРТУСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

РЕАКЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

ТОМ XXIII
ВЫП. 3(83)
Сентябрь 1986

ТАРТУ

Редакционная коллегия:

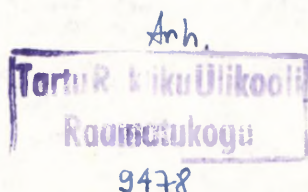
В.А. Палы (отв. редактор)

В.И. Минкин

А.Ф. Попов

И.А. Коппель

М.М. Карельсон



РЕАКЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ.

Том XXIII. Вып. 3(83). Сентябрь 1986.

На русском языке.

Тартуский государственный университет.

ЭССР, 202400, г.Тарту, ул.Ülikooli, 18.

Ответственный редактор В. Палы.

Подписано к печати 20.01.1987.

MB 01511

Формат 60x84/16.

Бумага писчая.

Машинопись. Ротапринт.

Условно-печатных листов 7,91.

Учетно-издательских листов 7,45. Печатных листов 8,5.

Тираж 400.

Заказ № 1112.

Цена 1 руб. 10 коп.

Типография ТГУ, ЭССР, 202400, г.Тарту, ул.Тийги, 78.

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

1. Статья должна быть написана с краткостью, совместимой с ясностью изложения, окончательно отредактирована и оформлена. Статья является оригиналом для печати.
2. Текст должен быть напечатан на белой бумаге стандартного формата через 1,5 интервала с одной стороны листа и занимать вместе с рисунками и таблицами площадь в пределах 15,5 см по горизонтали и 23,5 см по вертикали. Статья должна быть напечатана на машинке с тщательно очищенным шрифтом, печать должна быть четкой и контрастной, но не слишком жирной. На первой странице статьи следует оставить сверху два пустых ряда для названия сборника.
3. Математические символы, напр. \log , \max , а также химические элементы и латинские названия журналов, книг и т.д. вписываются по возможности на машинке.
4. Для каждого рисунка необходимо оставить место среди текста над соответствующей подписью. Рисунки следует приложить четко выполненными на миллиметровой бумаге в масштабе 2:1 по отношению к оставленному в тексте месту. Рисунки пронумеровать.
5. Каждая работа должна сопровождаться направлением учреждения, в котором она выполнена, двумя рецензиями и актом экспертизы.
6. Сборник издается на двух языках -- русском и английском; необходим поэтому идентичный русскому текст статьи на английском языке.
7. В английском варианте статьи:
 - а) в цифрах вместо запятой следует ставить точку (например, 10.5 вместо 10,5);
 - б) в заголовке статьи, а также в списке литературы, перед последней фамилией ставится "and", если число

авторов больше двух, то перед "and" ставится запятая, все слова в заголовках (например, таблиц) пишутся с большой буквы;

- в) следует придерживаться американской транскрипции слов, допускающих разнонаписание (например, "ionization", а не "ionisation", "center", а не "centre", "behavior", а не "behaviour" и т.д.).
8. Ссылки на литературные источники даются в соответствии с правилами "Chemical Abstracts".
 9. При ссылках в английском варианте статьи на выпуски настоящих сборников, вышедших до 1975 года, название сборника следует писать в виде "Reakts.sposobn.organ.soedin.", после 1975 г. -- "Organic Reactivity".
 10. Авторы, испытывающие затруднения при переводе на английский язык, могут обратиться за помощью в редакцию.

УДК 577.152.344

ЗАВИСИМОСТЬ ВЛИЯНИЯ УХОДЯЩЕЙ ГРУППЫ ИНГИБИТОРА
ОТ СТРОЕНИЯ ЕГО ФОСФОРНОЙ ЧАСТИ В РЕАКЦИИ ХИМОТРИПСИНА
С ТИОЭФИРАМИ О-АЛКИЛ-МЕТИЛФОСФОНОВЫХ КИСЛОТ

П.Ф.Сикк, М.М.Пейпс, В.С.Абдукахаров,
А.А.Абдувахобов, А.А.Аавиксаар
Институт химической и биологической физики АН ЭССР,
г. Таллин
Институт биоорганической химии АН УзССР, г. Ташкент
Поступило 26 августа 1986 г.

Показано, что влияние структуры алифатической уходящей группы тиофосфонатов $(C_2H_5O)(CH_3)P(O)SX$ (I) и $(n-C_6H_{13}O)(CH_3)P(O)SX$ (II), где $X = -C_nH_{2n+1}$ и $-(CH_2)_mSC_nH_{2n+1}$, на бимолекулярные константы скорости необратимого ингибирования α -химотрипсина описывается уравнением $\lg k_i = C + \rho^* \sigma^* + \Phi I$, учитывающим индукционное и гидрофобное влияния заместителя X. При этом, эффекты заместителя в уходящей группе зависят от структуры фосфорной части ингибитора: замена этильного радикала в (I) на гексильный в (II) приводит к изменению формы зависимости скорости реакции от гидрофобности уходящей группы и уменьшению ρ^* , что указывает на эффективную электрофильную сольватацию реакционного центра ингибитора в "оксианионной полости" фермента в переходном состоянии реакции, обеспеченную взаимодействием гексильного радикала в (II) с гидрофобной щелью в активном центре фермента.

При гидролизе ароматических сложных эфиров карбоксильных кислот под действием α -химотрипсина (ХТ) величина константы ρ^- в уравнении Гаммета значительно зависит от структу-

ры ацильной части субстрата: для производных N-ациламинокислот^{1,2} она имеет значения от 0,45 до 0,63, в то время как в случае фенилацетатов^{3,4} $\rho^- \sim 2$. В работе Уильямса¹ было предположено, что низкие значения ρ^- при ацилировании ХТ аминокислотными субстратами обусловлены электрофильным ассистированием образования тетраэдрического переходного состояния путем образования водородных связей между окси-анионом, образующимся из карбонильной группы субстрата, и NH-группами остатков Gly 193 и Ser 195 в "оксианионной полости"^{5,6} фермента. В другой работе², однако, было предложено альтернативное объяснение уменьшения ρ^- в результате образования водородной связи NH-групп фермента с атомом кислорода в уходящей группе субстрата.

Поскольку реакция фосфорорганических соединений с ХТ по всей вероятности протекает без раскрытия двойной связи $P=O$, как в неферментативных реакциях нуклеофильного замещения у тетраэдрического фосфора в сложных эфирах O,O-ди-алкилфосфорных и O-алкил-алкилфосфоновых кислот^{7,8}, то можно думать, что значение ρ^* в реакции фосфорорганических соединений $(RO)(CH_3)P(O)SX$ с ХТ определяется в первую очередь сольватацией уходящей группы и гораздо меньше зависит от сольватации фосфорильной группы, не затрагиваемой в реакции. В связи с этим представляет интерес установить, зависит ли индукционное влияние уходящей группы в фосфорорганических тиоэфирах от строения их фосфорильной части. В настоящей работе для исследования этого вопроса была изучена кинетика реакции ХТ с двумя сериями ингибиторов $(RO)(CH_3)P(O)SX$ - в серии (I) заместитель $R = -C_2H_5$ не имеет достаточной длины для взаимодействия с гидрофобной щелью в активном центре ХТ⁹, в серии (II) $R = -C_6H_{13}$ имеет оптимальную длину для взаимодействия с этим участком¹⁰.

Бимолекулярные константы скорости фосфорилирования активного центра ХТ под действием этих соединений приведены в таблице 1. На рисунке 1 показана зависимость $\lg k_i$ от π_X для ингибиторов из серии (I) с n-алкильными радикалами в уходящей группе. Из рисунка видно, что вплоть до длины

нормального углеводородного радикала с $n=9$ в этом ряду соблюдается линейная зависимость по уравнению

$$\lg k_i = c + \phi \pi_X, \quad (1)$$

что свидетельствует о гидрофобном взаимодействии уходящей группы с поверхностью фермента; π -константы гидрофобности X рассчитали по аддитивной схеме¹¹ с использованием

$$\pi_{-CH_3} = \pi_{-CH_2-} = 0,50.$$

Для соединений из серии (II) с n -алкильными радикалами в уходящей группе $\lg k_i$ при увеличении длины углеводородной цепи возрастают согласно уравнению (1) только в промежутке X от $-C_2H_5$ до $-C_4H_9$ -н, а при дальнейшем увеличении длины цепи до производного с $X = -C_7H_{15}$ -н они остаются практически неизменными (рис. 2). Таким образом, в реакционной серии, где заместитель в кислотной части соединения имеет оптимальную длину для взаимодействия с гидрофобной щелью в активном центре ХТ, взаимодействие уходящей группы с поверхностью фермента проявляется только при размерах заместителя, не превышающих длину n -бутильной группы. Значения коэффициентов ϕ для серии (I) и (II) были определены обработкой экспериментальных данных в таблице 1 согласно двухпараметровому уравнению

$$\lg k_i^X = c + \rho^* \sigma_X^* + \phi \pi_X, \quad (2)$$

где член $\rho^* \sigma^*$ учитывает индукционное влияние уходящей группы $-SX$. Для учета индукционного влияния заместителя X использовалась шкала σ^* , в которой стандартным заместителем с $\sigma^* = 0$ принята бесконечно длинная полиметиленовая цепь^{12,13}, что позволяет рассматривать в одной реакционной серии алкильные и электроотрицательные заместители. Константы σ^* для заместителей $-(CH_2)_m SC_n H_{2n+1}$ приравнены к σ^* для $-(CH_2)_m SC_2 H_5$ ¹⁴. В серии (II) для соединений, в которых длина основной цепи в уходящей группе превышает длину тиобутильной группы, использованы "эффективные" π -константы, учитывающие гидрофобность соответствующего фрагмента основной цепи уходящей группы (см. табл. 1). Константы π для за-

Таблица 1

Бимолекулярные константы скорости реакции α -химотрипси-
на с О-н-алкил-S-алкил-метилтиофосфонатами, $(RO)(CH_3)P(O)Sx$.

Температура $25,0 \pm 0,1^\circ C$, pH $7,60 \pm 0,02$, фосфатный или
Na-веронал-HCl буферные растворы, $\mu = 0,05$, 0-0,8 об.%
ацетонитрила.

№ п/п	X	$k_i, M^{-1} s^{-1}$		σ_x^*	π_x	$\pi_{эфф}^{в)}$
		R = -C ₂ H ₅ ^{а)}	R = -C ₆ H ₁₃ -н ^{б)}			
1	-C ₂ H ₅	$4,0 \cdot 10^{-4}$	0,77	0,067	1,0	1,0
2	-C ₃ H ₇ -н	$4,7 \cdot 10^{-4}$	0,86	0	1,5	1,5
3	-C ₄ H ₉ -н	$7,3 \cdot 10^{-4}$	1,66	0	2,0	2,0
4	-C ₅ H ₁₁ -н	$1,4 \cdot 10^{-3}$	1,55	0	2,5	2,0
5	-C ₆ H ₁₃ -н	$2,3 \cdot 10^{-3}$	-	0	3,0	-
6	-C ₇ H ₁₅ -н	$3,4 \cdot 10^{-3}$	1,72	0	3,5	2,0
7	-C ₉ H ₁₉ -н	$1,0 \cdot 10^{-2}$	-	0	4,5	-
8	-CH ₂ SC ₂ H ₅	$3,6 \cdot 10^{-2}$	14,9	0,56	1,45	1,45
9	-(CH ₂) ₂ SC ₂ H ₅	$6,1 \cdot 10^{-3}$	3,76	0,28	1,95	1,45
10	-(CH ₂) ₂ SC ₃ H ₇ -н	$1,2 \cdot 10^{-2}$	-	0,28	2,45	-
11	-(CH ₂) ₂ SC ₄ H ₉ -н	$1,4 \cdot 10^{-2}$	-	0,28	2,95	-
12	-(CH ₂) ₃ SC ₂ H ₅	$3,8 \cdot 10^{-3}$	-	0,14	2,45	-
13	-(CH ₂) ₄ SC ₂ H ₅	$3,2 \cdot 10^{-3}$	4,16	0,07	2,95	2,0
14	-(CH ₂) ₅ SC ₂ H ₅	$5,8 \cdot 10^{-3}$	-	0,035	3,45	-
15	-(CH ₂) ₆ SC ₂ H ₅	-	2,68	0,018	3,95	2,0

а) Средняя погрешность определения k_i - 10%.

б) Средняя погрешность определения k_i - 4%.

в) Через $\pi_{эфф}$ обозначены эффективные значения π -констант
в корреляции по уравнению (2) для серии ингибиторов с
R = -C₆H₁₃-н, см. текст.

местителей $-(CH_2)_m SC_n H_{2n+1}$ рассчитали по аддитивной схеме с
использованием коэффициента распределения диэтилсульфида в
системе октанол-вода¹¹.

Параметры корреляций $\lg k_i$ с σ^* и π согласно уравнению

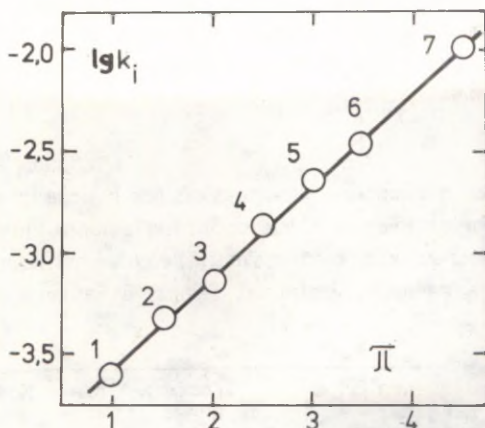


Рис. 1. Зависимость логарифмов бимолекулярных констант скоростей реакции α -химотрипсина с 0-этил-S-алкил-метилтиофосфонатами $(C_2H_5O)(CH_3)P(O)SX$, $X = -C_nH_{2n+1}$, от π -констант заместителей X в уходящей группе. Для ингибитора с $X = -C_2H_5$ из константы $\lg k_i$ вычитан вклад индукционного влияния алкильной группы, $\rho^* \sigma^*$, по уравнению (2). Нумерацию точек см. табл. 1.

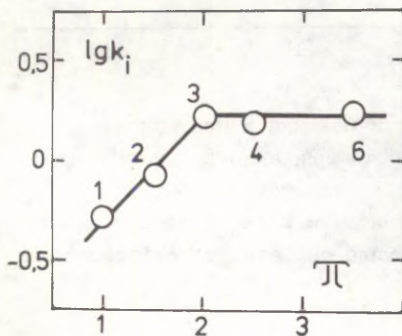


Рис. 2. Зависимость логарифмов бимолекулярных констант скоростей реакции α -химотрипсина с 0-н-гексил-S-алкил-метилтиофосфонатами $(n-C_6H_{13}O)(CH_3)P(O)SX$. Обозначения и нормирование $\lg k_i$ для ингибитора с $X = -C_2H_5$ как на рисунке 1.

(2) приведены в таблице 2. Из таблицы видно, что ρ для обеих изученных серий ингибиторов имеют близкие значения, в то время как константа ρ^* для серии с $R = -C_6H_{13}$ -н в 1,5 раз меньше, чем в серии с $R = -C_2H_5$ и совпадает по величине с ρ^* для реакции щелочного гидролиза соединений $(C_2H_5O)(CH_3)P(O)SX$ в водной среде¹⁴.

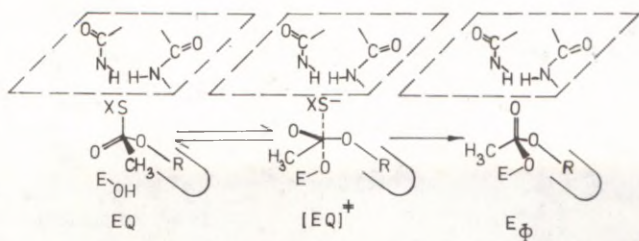
Таблица 2

Зависимость логарифмов бимолекулярных констант скоростей реакции α -химотрипсина с фосфорорганическими ингибиторами от структуры их уходящей группы. Результаты корреляционного анализа экспериментальных данных в таблице 1 по уравнению (2).

Реакционная серия	Значения определяемых параметров	n	Коэффициент корреляции, r	Стандартное отклонение, s	Коэффициент корреляции между σ^* и π , r_x
$C_2H_5O-\overset{\overset{O}{\parallel}}{P}-SX$ $ $ CH_3	$\rho^* = 3,36 \pm 0,10$ $\varphi = 0,46 \pm 0,02$ $\rho_{OH}^* = 1,90 \pm 0,03^a)$	14	0,995	0,059	0,366
$n-C_6H_{13}O-\overset{\overset{O}{\parallel}}{P}-SX$ $ $ CH_3	$\rho^* = 2,21 \pm 0,21$ $\varphi = 0,60 \pm 0,11$	9	0,974	0,103	0,426

a) ρ^* для реакции щелочного гидролиза¹⁴.

Уменьшение чувствительности реакции к индукционному влиянию уходящей группы при связывании алкоксильного радикала кислотной части ингибиторов в гидрофобной полости в активном центре ХТ можно объяснить, исходя из следующей схемы превращения сорбционного комплекса фермента с фосфорорганическим ингибитором:



В схеме предположено, что ориентация связанного в гидрофобной полости ХТ алкоксильного заместителя $R-O-$ в кислотной части ингибитора по отношению к активному центру фермента в EQ , $[EQ]^*$ и фосфорилферменте E_Φ остается неизменной. Уходящая группа ингибитора направлена в сторону положительных полюсов (NH -групп) диполей пептидных связей Met 192-Gly 193 и Ser 195-Gly 196, образующих центр стабилизации оксианиона при гидролизе аминокислотных субстратов. Это обеспечивает сольватацию образующегося отрицательного заряда на атоме серы в бипирамидальном переходном состоянии $[EQ]^*$, в котором связи $P=O$, $P-O$ и $P-C$ расположены в одной плоскости. В фосфорилферменте группа $P=O$ занимает то же положение, что уходящая группа в сорбционном комплексе. Связывание алкильной группы в гидрофобной щели обеспечивает выгодную ориентацию уходящей группы по отношению к диполям двух пептидных связей, создающих около разрываемой связи микроокружение, которое по полярности (и электрофильности), вероятно, не уступает водной среде. Чувствительность реакции к индукционному влиянию уходящей группы тогда имеет приблизительно такое же значение, что реакция щелочного гидролиза квазисубстратов в водной среде (см. табл. 2). Если же алкильная группа в фосфорилирующей части квазисубстрата слишком коротка для эффективной сорбции в гидрофобной щели, как в O -этил-S-алкил-метилтиофосфонатах ($R = -C_2H_5$), то ориентация уходящей группы по отношению к сольватационной полосе, видимо, нарушается. При значительном разделении зарядов в переходном состоянии, это равноценно перенесению реакции

в среду с меньшей полярностью, что приводит к увеличению ρ^* до величины, значительно превышающей ρ^* для реакции щелочно-го гидролиза тех же соединений в водной среде.

Увеличение ρ^- для реакции ХТ фенилацетатами^{3,4} может быть также связано с таким эффектом нарушения сольватации реакционного центра в переходном состоянии реакции. Известно^{15,16}, например, что константа ρ^0 для реакции щелочного гидролиза арилзамещенных фенилацетатов возрастает при переходе из водной среды в бинарные смеси вода-диоксан, вода-этанол и вода-ацетон от $\rho^0 = 0,947 \pm 0,037$ до величин 1,6-1,8, достигая тем самым величину, полученную при ацилировании ХТ этими соединениями^{3,4}.

В итоге можно сделать вывод, что в случае фосфорорганических квазисубстратов и по всей вероятности также субстратов ХТ (фенилацетатов) для объяснения зависимости индукционного влияния уходящей группы от структуры ацильной части соединений нет необходимости введения изменений в детальный механизм реакции, в частности, предполагать образование дополнительных водородных связей при превращении "хороших" субстратов. Достаточно предположить, что низкая чувствительность к индукционному влиянию уходящей группы обеспечивается электрофильной сольватацией реакционного центра в полости, создаваемой NH-группами Gly 193 и Ser 195.

Э к с п е р и м е н т а л ь н а я ч а с т ь

Синтез фосфорорганических соединений проводили по известным методикам^{17,18}, соединения очистили на колонке с силикагелем¹⁹. Структура и чистота соединений подтверждена спектрами ЯМР ^{13}C , данными элементарного анализа, инфракрасными спектрами и титрованием образующихся при их щелочном гидролизе меркаптанов²⁰. Кинетику ингибирования активности ХТ в условиях избытка квазисубстрата измеряли описанным ранее²¹ методом отбора проб. Бимолекулярные константы скорости реакции, k_i (табл. 1), рассчитывали методом наименьших квадратов из зависимостей псевдомономолекулярных

констант скоростей от концентрации квазисустрата с учетом спонтанной инактивации фермента в ходе реакции.

Л и т е р а т у р а

1. A.Williams, *Biochemistry*, 9, 3383 (1970).
2. R.E.Williams, M.L.Bender, *Can. J. Biochem.*, 49, 210 (1971).
3. M.L.Bender, K.J.Nakamura, *J. Am. Chem. Soc.*, 84, 2577 (1962).
4. K.Ikeda, S.Kunugi, N.Ise, *Arch. Biochem. Biophys.*, 217, 37 (1982).
5. J.D.Robertus, J.Kraut, R.A.Alden, J.J.Birktoft, *Biochemistry*, 11, 4293 (1972).
6. J.Kraut, *Ann. Rev. Biochem.*, 46, 331 (1977).
7. Н.А.Лошадкин, Механизмы нуклеофильного замещения у тетраэдрического атома фосфора, к кн. О'Брайн Р.О. "Токсичные эфиры кислот фосфора", М.: "Мир", 1964, с. 487-504.
8. А.Кирби, С.Уоррен, *Органическая химия фосфора*, М.: "Мир", 1971, с. 319-350.
9. Р.А.Хербст, А.А.Абдувахабов, А.А.Аавиксаар, *Реакц. способн. орган. соедин.*, 10, 825 (1973).
10. П.Ф.Сикк, А.А.Абдувахабов, А.А.Аавиксаар, *Реакц. способн. орган. соедин.*, 12, 425 (1975).
11. A.Leo, C.Hansch, D.Elkins, *Chem. Rev.*, 71, 525 (1971).
12. В.А.Пальм, Т.О.Пюсса, В.М.Нуммерт, И.В.Тальвик, *Реакц. способн. орган. соедин.*, 10, 243 (1973).
13. В.А.Пальм, *Основы количественной теории органических реакций*. Л.: "Химия", 1977, с. 133-145.
14. Я.Л.Ярв, А.А.Аавиксаар, Н.Н.Годовиков, Н.А.Морозова, *Реакц. способн. орган. соедин.*, 2, 813 (1972).
15. Б.И.Истомин, Б.Н.Баженов, Г.Д.Елисеева, Б.Л.Финкельштейн, *Реакц. способн. орган. соедин.*, 16, 197 (1979).
16. Б.И.Истомин, Б.Н.Баженов, Б.Л.Финкельштейн, Г.Д.Елисеева, *Реакц. способн. орган. соедин.*, 17, 406 (1980).

17. А.А.Абдувахабов, И.И.Агабекова, Н.Н.Годовиков, М.И.Кабачник, В.И.Розенгарт, Изв. АН СССР, сер. хим., № 7, 1588 (1970).
18. Я.Л.Ярв, А.А.Аавиксаар, Д.И.Лобанов, Н.Н.Годовиков, Изв. АН СССР, сер. хим., № 2, 426 (1976).
19. Я.Л.Ярв, А.А.Аавиксаар, Изв. АН ЭССР, Хим. Геол., 25, 169 (1976).
20. Ю.Лангель, Я.Ярв, А.Аавиксаар, Уч. записки Тартуского гос. университета, 2 (332), 172 (1974).
21. П.Ф.Сикк, А.А.Аавиксаар, Н.Н.Годовиков, Н.А.Морозова, В.А.Пальм, Реакц. способн. орган. соедин., 7, 986 (1970).

УДК 577.152:577.166

ГИДРОФОБНОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ В АКТИВНЫХ ЦЕНТРАХ
СЕРИНОВЫХ ПРОТЕИНАЗ ИЗ ТЕРМОАКТИНОМИЦЕТОВ

М.М.Пейпс, П.Ф.Сикк, А.А.Аавиксаар

Институт химической и биологической физики АН ЭССР, г.Таллин

Поступило 26 августа 1986 г.

Определены бимолекулярные константы скорости реакции термитазы и сериновой протеиназы из *Thermoactinomyces vulgaris* PA 11-4a с субстратами $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{NHCH}(\text{R})\text{C}(\text{O})\text{OCH}_3$ (I) и необратимыми фосфорорганическими ингибиторами $(\text{RO})(\text{CH}_3)\text{P}(\text{O})\text{OC}_6\text{H}_4\text{NO}_2$ -п (II), где R - алкильные или арилалкильные заместители. Оба фермента в этих реакциях проявляют одинаковую специфичность. При длине R, не превышающей длины n-бутильного радикала, зависимость скорости ферментативного гидролиза (I) от их структуры описывается уравнением $\lg k_{II} = 3,54 + 1,19 \lg R$, где R - коэффициент распределения субстратов в двухфазной системе октанол-вода. Для (II) линейная зависимость $\lg k_{II}$ от гидрофобности соединений соблюдается при изменении R от $-\text{C}_3\text{H}_7$ -н до $-\text{C}_6\text{H}_{13}$ -н. Сделан вывод, что первичная субстратная специфичность протеиназ из *Thermoactinomyces vulgaris* определяется наличием в их активных центрах гидрофобной полости, аналогичной гидрофобному карману в активном центре α -химотрипсина, что принципиально отличает их от бактериальных субтилизинов, не проявляющих гидрофобной селективности относительно (I).

В последние годы из различных штаммов термофильных актиномицетов и некоторых других микроорганизмов выделены сериновые протеиназы, гидролизующие пептидные связи после гидрофобных аминокислот и отличающиеся наличием в них сво-

бодной SH-группы, существенной для ферментативной активности¹⁻⁸. Наиболее изученным ферментом в этом подсемействе^{7,8} сериновых протеиназ является термитаза - термостабильная протеиназа из *Thermoactinomyces vulgaris*¹, которая по данным об аминокислотной последовательности⁹⁻¹², а также о специфичности по отношению к некоторым олигопептидным субстратам^{13,14} была классифицирована как фермент типа субтилизинов.

С другой стороны, изучение взаимодействия SH-содержащей сериновой протеиназы из *Thermoactinomyces vulgaris* штамм PA 11-4а³ с серией метиловых эфиров N-ацетил-L-аминокислот, $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{NHCH}(\text{R})\text{C}(\text{O})\text{OCH}_3$, показало, что фермент по первичной субстратной специфичности принципиально отличается от субтилизинов: в случае протеиназы термоактиномицета между $\lg(k_{\text{кат}}/k_{\text{м}}^{\text{каж}})$ и гидрофобностью заместителя R в диапазоне изменения константы скорости на два порядка наблюдалась линейная корреляция³, в то время как субтилизины в отношении субстратов этой серии гидрофобной селективности не проявляют¹⁵. По взаимодействию R с гидрофобной полостью в активном центре фермента, а также по выполнению в данном ряду субстратов принципа "лучшее связывание-лучшая реакция"³ этот фермент можно считать сходным с α -химотрипсином.

В настоящей работе исследование взаимодействия указанной серии метиловых эфиров N-ацетил-L-аминокислот с микробными протеиназами распространено на термитазу с целью сопоставления первичных субстратных специфичностей SH-содержащих сериновых протеиназ из разных штаммов *Thermoactinomyces vulgaris*. Для описания специфичности действия ферментов в работе использованы полученные в условиях $[S] \ll k_{\text{м}}^{\text{каж}}$ бимолекулярные константы скорости ферментативного гидролиза субстратов, k_{11} . Для оценки гидрофобности субстратов использованы логарифмы коэффициентов их распределения в модельной системе октанол-вода, $\lg P$, так как π -константы для боковых цепей аминокислот, рассчитанные из коэффициентов распределения различных их производных, не согласуются между собой¹⁶.

Для изучения топографии активной поверхности протеиназ из термоактиномицетов в работе использована также серия фосфорорганических ингибиторов $(RO)(CH_3)P(O)OC_6H_4NO_2$ -п с $R = -C_{n-2n+1}H_{2n+1}$ -н ($n=2-8$), которая ранее применялась для исследования субтилизинов^{17,18} и внутриклеточных протеиназ¹⁸ из *Bacillus amyloliquefaciens*.

Экспериментальная часть

Сериновая протеиназа из *Thermoactinomyces vulgaris* РА 11-4а была очищена из белкового осадка культуральной жидкости хроматографией на колонках с Сефадексом G-50 и КМ-целлюлозой³.

Термитаза фирмы "Серва" (ФРГ) использовалась без дополнительной очистки.

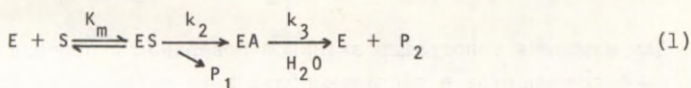
Исходные растворы ферментов готовили в ацетатном буферном растворе (рН 5,0, $\mu = 0,05$), содержащем 10^{-2} М $CaCl_2$.

Титрование активных центров ферментов проводили с использованием О-н-гексил-п-нитрофенил-метилфосфоната при 25° и рН 7,6 в 0,04М Na-веронал-НСI буферном растворе, следя за выделением продукта реакции, п-нитрофенола ($\epsilon = 13700$ при 400 нм), на спектрофотометрах Varian Techtron 635 или Beckman 5260.

Синтез и результаты анализа полученных метиловых эфиров N-ацетил-L-аминокислот описаны ранее³. Чистоту соединений проверяли титрованием кислот, образующихся при полном гидролизе субстратов под действием термитазы. Исходные растворы субстратов готовили в ацетонитриле.

Кинетические измерения проводили на рН-стате ("Radio-meter" TTT2/SBR3/ABU12) при 25°С и рН 7,6 в растворе, содержащем 0,2 М KCl, 10^{-2} М $CaCl_2$ и 5 об.% ацетонитрила.

Биомолекулярные константы скорости ферментативного гидролиза субстратов согласно реакционной схеме



определяли в условиях $[S]_0 \ll K_m^{\text{каж}}$, когда реакция следует кинетике первого порядка с константой скорости

$k = (k_2/K_m)[E]_0 = k_{11}[E]_0$. Константы k определяли дифференциальным методом Рудакова¹⁹.

Синтез и очистку 0-н-алкил-п-нитрофенилметилфосфонатов проводили, как описано ранее²⁰. Исходные растворы соединений готовили в абсолютном этаноле.

Ингибирование активности протеиназ в условиях избытка ингибитора ($[I]_0 \gg [E]_0$) проводили при 25°C и pH 7,6 в 0,04М Na-веронал-HCl буферном растворе, содержащем 10^{-3} М $CaCl_2$ и до 2 об.% этанола. За ходом реакции следили методом отбора проб, определяя остаточную активность фермента по начальной скорости гидролиза $7 \cdot 10^{-3}$ М метилового эфира N-ацетил-L-фенилаланина. Константы скорости первого порядка, $k = (k_2/K_m)[I]_0 = k_{11}[I]_0$, определяли из зависимостей $\lg(A\%)$ от t , согласно уравнению

$$\lg(A\%) = 2 - k_{11}[I]_0 t / 2,303, \quad (2)$$

которое соответствует схеме (1) с $k_3=0$. Бимолекулярные константы скорости необратимого ингибирования активности ферментов определяли как наклоны прямых в координатах k от $[I]_0$ (см.¹⁸).

Коэффициенты распределения метиловых эфиров N-ацетил-L-аминокислот между октанолом и водой (0,1 М аммоний-фосфатный буферный раствор, pH 2,2) были определены при комнатной температуре. Растворы соединений с концентрациями $(0,1-1,0) \cdot 10^{-3}$ М были приготовлены либо в буферном растворе, насыщенном октанолом, либо в октаноле, насыщенном буферным раствором. После 200-кратного переворачивания пробирки с притертой пробкой, содержащей по 2,0 мл каждого из растворов, в течение 10 мин и расслаивания фаз концентрацию соединений в обеих фазах определяли на жидкостном хроматографе высокого давления (Du Pont 8800, колонка Zorbax ODS,

4,6 мм х 25 см, 35°C, 0,1 М аммоний-фосфатный буфер, pH 2,2, 50% метанола, детектирование по поглощению при 205 нм). Была проверена независимость коэффициентов распределения от числа переворачиваний пробирки и от концентрации соединений; коэффициенты не изменялись также при отборе проб через 10 часов после смешивания фаз. Полученные значения логарифмов коэффициентов распределения, $\lg R$, для метиловых эфиров N-ацетил-L-аминокислот приведены в таблице 1.

Результаты и их обсуждение

Из таблицы 1 видно, что в случае обоих изученных ферментов увеличение гидрофобности бокового радикала в ацильной части субстрата приводит к увеличению бимолекулярных констант скоростей ацилирования активных центров протеиназ. Зависимость $\lg k_{11}$ от $\lg R$ для соединений 1-4 с нормальными углеводородными радикалами в качестве R описывается общим для двух протеиназ уравнением

$$\lg k_{11} = (3,55 \pm 0,03) + (1,19 \pm 0,07) \lg R \quad (3)$$

с $r = 0,991$ и $s = 0,096$ при $n = 8$. Соответствующий этому уравнению график зависимости $\lg k_{11}$ от $\lg R$ приведен на рисунке 1. Из рисунка видно, что на прямую, охватывающую производные алифатических аминокислот от аланина ($R = -CH_3$) до норлейцина ($R = -C_4H_9$ -н) попадает также $\lg k_{11}$ для производного фенилаланина ($R = -CH_2-\text{C}_6\text{H}_5$). Включение в корреляцию этого субстрата и производного лейцина с разветвленным радикалом в боковой цепи [$R = -CH_2CH(CH_3)_2$] не меняет наклона прямой и лишь несколько ухудшает качество корреляции:

$$\lg k_{11} = (3,54 \pm 0,06) + (1,19 \pm 0,08) \lg R \quad (4)$$

с $r = 0,976$ и $s = 0,163$ при $n = 12$.

Субстраты с более длинными, чем н-бутильный, нормальными углеводородными радикалами в боковой цепи дают систематические отрицательные отклонения $\lg k_{11}$ от корреляционной прямой (см. рис. 1). Такая зависимость бимолекулярной конс-

Таблица 1

Гидролиз метиловых эфиров N-ацетил-L-аминокислот, $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{NHCH}(\text{R})\text{C}(\text{O})\text{OCH}_3$, под действием термитазы и сериновой протеиназы из *Thermoactinomyces vulgaris* PA 11-4a. Температура 25°C, pH 7,6, 0,2 М KCl, 5 об.% ацетонитрила. Указаны среднеквадратичные отклонения.

№ п/п	R	lgP	$k_{11} \cdot 10^{-2}, \text{M}^{-1} \text{с}^{-1}$	
			термитаза	протеиназа PA 11-4a
1	$-\text{CH}_3$	-0,57	$9,9 \pm 0,2$	$5,3 \pm 0,1$
2	$-\text{C}_2\text{H}_5$	-0,17	22 ± 1	20 ± 2
3	$-\text{C}_3\text{H}_7-\text{H}$	0,33	95 ± 1	114 ± 3
4	$-\text{C}_4\text{H}_9-\text{H}$	0,79	282 ± 9	277 ± 6
5	$-\text{C}_5\text{H}_{11}-\text{H}$	1,28	180 ± 10	216 ± 9
6	$-\text{C}_6\text{H}_{13}-\text{H}$	1,70	29 ± 1	$32,8 \pm 0,9$
7	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	0,84	179 ± 7	232 ± 4
8	$-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$	0,92	760 ± 10	660 ± 20
9	$-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{OH}-\text{п}$	0,33	323 ± 6	445 ± 6

танты скорости от длины и гидрофобности углеводородного радикала ацильной части субстрата весьма сходна с зависимостью константы скорости гидролиза этих субстратов под действием α -химотрипсина, в случае которого первичная субстратная специфичность фермента определяется наличием в его активном центре четко сформированной гидрофобной полости²¹⁻²⁴ для связывания боковой цепи аминокислотного остатка в положении P_1 полипептидного субстрата (номенклатура субцентров фермента и положений аминокислотных остатков в полипептидных субстратах по Мехтеру-Бергеру²⁵). Можно думать, что и в случае SH-содержащих сериновых протеиназ из микроорганизмов их первичная субстратная специфичность определяется сорбцией бокового радикала субстрата в ограниченной гидрофобной полосе в активном центре фермента.

Гидрофобный сорбционный участок в активных центрах про-

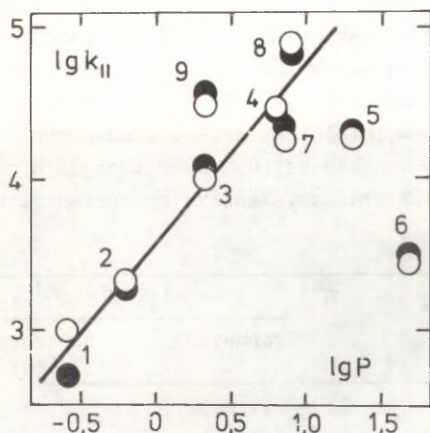


Рис.1. Зависимость $\lg k_{II}$ от $\lg P$ для гидролиза субстратов $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{NHCH}(\text{R})\text{C}(\text{O})\text{OCH}_3$ под действием термитазы (○) и сериновой протеиназы из *Thermoactinomyces vulgaris* PAII-4a (●). Нумерация точек как в таблице 1.

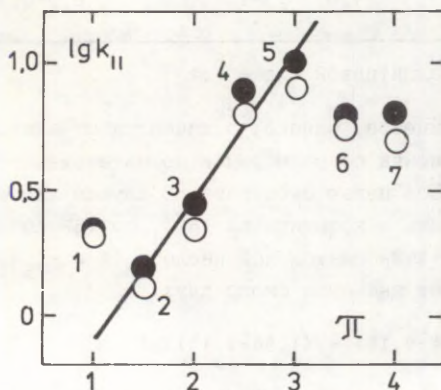


Рис.2. Зависимость $\lg k_{II}$ от π для реакции фосфорилирования активных центров термитазы (○) и сериновой протеиназы из *Thermoactinomyces vulgaris* PAII-4a (●) под действием $\text{O-n-alkyl-p-nitrophenyl-methylphosphonates}$, $(\text{RO})(\text{CH}_3)\text{P}(\text{O})\text{OC}_6\text{H}_4\text{NO}_2$ -п. Нумерация точек как в таблице 2.

Таблица 2

Бимолекулярные константы скорости ингибирования активности термитазы и сериновой протеиназы из *Thermoactinomyces vulgaris* PA 11-4a под действием О-н-алкил-п-нитрофенилметилфосфонатов, $(RO)(CH_3)P(O)OC_6H_5-NO_2$ -п. Температура $25^\circ C$, pH 7,6, 0,04 М Na-веронал-HCl буферный раствор с содержанием 10^{-3} М CaCl₂; 2 об.% этанола. Указаны среднеквадратичные отклонения.

№ п/п	R	$\pi^a)$	$k_{II}, M^{-1} c^{-1}$	
			термитаза	протеиназа PA 11-4a
1	-C ₂ H ₅	1,0	$2,1 \pm 0,5$	$2,2 \pm 0,5$
2	-C ₃ H ₇ -н	1,5	$1,3 \pm 0,1$	$1,6 \pm 0,1$
3	-C ₄ H ₉ -н	2,0	$2,2 \pm 0,3$	$2,9 \pm 0,5$
4	-C ₅ H ₁₁ -н	2,5	$6,5 \pm 0,9$	$8,0 \pm 0,6$
5	-C ₆ H ₁₃ -н	3,0	8 ± 1	10 ± 1
6	-C ₇ H ₁₅ -н	3,5	$5,5 \pm 0,4$	6 ± 2
7	-C ₈ H ₁₇ -н	4,0	5 ± 1	$6,3 \pm 0,3$

а) Рассчитаны по аддитивной схеме¹⁸.

теиназ из актиномицетов, однако, отличается от аналогичного участка у химотрипсина по размерам и по интенсивности взаимодействия с боковой цепью субстрата. В случае химотрипсина линейная зависимость в координатах lgk_{II} от lgP соблюдается до производного α -аминогептановой кислоты ($R = -C_5H_{11}$ -н) и наклон прямой имеет значение около двух:

$$lgk_{II} = (1,54 \pm 0,10) + (1,96 \pm 0,13)lgP, \quad (5)$$

$r = 0,993$, $s = 0,043$, $n = 5$ (соединения 1-5 из таблицы 1, значения k_{II} из работы Джоунса и др.²¹). При этом необходимо отметить, что в случае химотрипсина зависимость реакционной способности производных ароматических аминокислот Phe и Tyr от строения R не подчиняется уравнению (5);

$lgk_{II}^{эксп} - lgk_{II}^{расч}$ для Phe составляет 1,3, для Tyr 2,8.

Несостоятельность экстракционной модели^{26,27} для описания гидрофобной селективности химотрипсина в реакции с производными ароматических аминокислот, проявляющаяся при использовании "исходных" параметров гидрофобности субстратов, lgP , требует специального рассмотрения. По данным настоящей работы, SH-содержащие сериновые протеиназы из термоактиномицета не оказывают предпочтения фенилаланину, но lgk_{II} для метилового эфира N-ацетил-L-тирозина все же имеет на 0,6 логарифмической единицы более высокое значение, чем предсказанное уравнениями (3) и (4).

Интересно отметить, что значения lgk_{II} для производных алифатических аминокислот в случае протеиназ термоактиномицетов существенно выше, чем lgk_{II} для химотрипсина. В реакции с фосфорорганическими ингибиторами имеет место обратное соотношение: константы скорости фосфорилирования активных центров микробных протеиназ под действием O-н-алкил-п-нитро-Фенил-метилфосфонатов в таблице 2 ниже, чем эти константы для химотрипсина²⁷. Зависимость lgk_{II} от Π -параметра гидрофобности^{18,28} заместителя R в $(RO)(CH_3)P(O)OC_6H_4NO_2$ -п показана на рисунке 2. Линейная область зависимости охватывает производные с R от $-C_3H_7$ -н до $-C_6H_{13}$ -н и характеризуется корреляционным уравнением

$$lgk_{II} = (-0,69 \pm 0,15) + (0,57 \pm 0,07)\pi \quad (6)$$

с $r = 0,962$ и $s = 0,104$ при $n = 8$. Дальнейшее увеличение длины н-алкильной цепи R приводит к уменьшению lgk_{II} , что указывает на связывание алкоксильного радикала ингибиторов в ограниченном гидрофобном участке на активной поверхности сериновых протеиназ из актиномицетов. Этот участок, по-видимому, не совпадает с гидрофобной полостью для связывания боковой цепи аминокислоты в субстратах $CH_3C(O)NHCH(R)C(O)ONH_2$, так как длина семичленного алкоксильного радикала н- $C_6H_{13}O-$, при которой lgk_{II} в ряду ингибиторов достигает максимального значения, отличается от соответствующей длины н- C_4H_9- в случае субстратов.

В итоге можно сказать, что, несмотря на большие аналогии в аминокислотных последовательностях, по первичной субстратной специфичности SH-содержащие сериновые протеиназы из термоактиномицетов принципиально отличаются от бактериальных субтилизинов. Специфичность ферментов из актиномицетов в реакции с субстратами $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{NHCH}(\text{R})\text{C}(\text{O})\text{OCH}_3$ согласуется с предположением о наличии в их активных центрах гидрофобной полости, аналогичной гидрофобному карману в активном центре химотрипсина. Субтилизины в реакции с метиловыми эфирами N-ацетиламино кислот гидрофобной селективности не проявляют¹⁵.

Литература

1. G. Hausdorf, K. Krüger, W.E. Höhne, *Int. J. Peptide Protein Res.*, 15, 420 (1980).
2. В.М. Степанов, Г.Н. Руденская, Н.Г. Нестерова, Т.И. Куприянова, Ю.М. Хохлова, И.А. Усайте, Л.Г. Логинова, Е.А. Тимохина, *Биохимия*, 1871 (1980).
3. М.М. Пейпс, Н.Ю. Паберит, Н.Г. Нестерова, М.С. Панк, П.Ф. Сикк, А.А. Аавиксаар, Ю.М. Хохлова, М.Б. Яковлева, Л.Г. Логинова, *Биохимия* 49, 797 (1984).
4. K. Mizusawa, F. Yoshida, *J. Biol. Chem.* 248, 4417 (1973).
5. P. Borgia, L.L. Campbell, *J. Bacteriol.*, 120, 1109 (1974).
6. А.С. Епремян, Г.Г. Честухина, Р.Р. Азизбекян, Е.М. Нетькса, Г.Н. Руденская, В.М. Степанов, *Биохимия*, 46, 920 (1981).
7. V.M. Stepanov, G.G. Chestukhina, G.N. Rudenskaja, A.S. Epremyan, A.L. Osterman, O.M. Khodova, L.P. Belyanova, *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, 100, 1687 (1981).
8. Г.Г. Честухина, А.С. Епремян, А.В. Гайда, А.Л. Остерман, О.М. Ходова, В.М. Степанов, *Биоорганическая химия* 8, 1649 (1982).
9. M. Baudyš, V. Kostka, K. Grüner, G. Hausdorf, W.E. Höhne, *Int. J. Peptide Protein Res.* 19, 32 (1982).
10. M. Baudyš, V. Kostka, G. Hausdorf, S. Fittkau, W.E. Höhne, *Int. J. Peptide Protein Res.* 22, 66 (1983).

11. B.Meloun, M.Baudýš, V.Kostka, G.Hausdorf, C.Frömmel, W.E.Höhne, FEBS Letters 183, 195 (1985).
12. C.Frömmel, Ch.Sander, Abstr. 13th International Congr. Biochem., Amsterdam 1985, 473 (TH-116).
13. D.Brömmе, R.Kleine, Current Microbiol. 11, 93 (1984).
14. D.Brömmе, K.Peters, S.Fink, S.Fittkau, Arch. Biochem. Biophys. 244, 439 (1986).
15. М.Пейпс, М.Панк, Я.Рийкоя, Н.Паберит, П.Сикк, А.Аавиксаар, Тезисы докладов 16ой Конференции ФЕБО, Москва 1984, 145 (1-054).
16. М.Панк, Кандидатская диссертация, Таллин 1984.
17. А.Аавиксаар, М.Пейпс, П.Сикк, Изв. АН ЭССР, химия, 33, 62 (1983).
18. A.Aaviksaar, M.Peips, P.Sikk, A.Ya.Strongin, A.N.Markaryan, V.M.Stepanov, Quant. Struct.-Act.Relat. 3, 96 (1984).
19. Е.С.Рудаков, Кинетика и катализ, 1, 177 (1960).
20. A.Osa, H.Arukaevu, A.Aaviksaar, J. Chromatogr. 135, 196 (1977).
21. J.B.Jones, T.Kunitake, C.Niemann, G.E.Hein, J. Am. Chem. Soc. 87, 1777 (1965).
22. V.N.Dorovska, S.D.Varfolomeyev, N.F.Kazanskaya, A.A.Klyosov, K.Martinek, FEBS Letters 23, 122 (1972).
23. П.Ф.Сикк, А.А.Абдувахабов, А.А.Аавиксаар, Реакц. способн. орган. соедин. 12, 245 (1975).
24. T.A.Steitz, R.Henderson, D.M.Blow, J. Mol. Biol. 46, 337 (1969).
25. I.Schechter, A.Berger, Biochem. Biophys. Res. Commun. 27, 157 (1967).
26. J.L.Miles, D.A.Robinson, W.J.Canady, J. Biol. Chem. 238, 2932 (1963).
27. A.Aaviksaar, J.Paris, V.Palm, Organic Reactivity 8, 817 (1971).
28. C.Hansch, A.Leo, Substituent Constants for Correlation Analysis in Chemistry and Biology, John Wiley & Sons, New York 1979, 13-63.

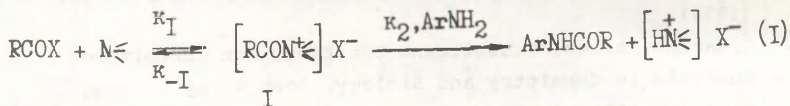
ИССЛЕДОВАНИЕ КИНЕТИКИ РЕАКЦИИ АМИНОЛИЗА АЦИЛГАЛОГЕНИДОВ,
КАТАЛИЗИРУЕМОГО 4-N,N-ДИМЕТИЛАМИНОПИРИДИНОМ В ХЛОРИСТОМ
МЕТИЛЕНЕ

В.А.Дадали, А.И.Костин, Т.М.Зубарева
Донецкий государственный университет, г.Донецк
Институт физико-органической химии и углехимии АН УССР,
г.Донецк

Поступило 19 июня 1986 г.

Изучена кинетика взаимодействия хлорида бензоил-4-N,N-диметиламинопиридиния с п-нитроанилином в хлористом метиле. Показано, что кинетика скорости определяющей стадии реакции аминолита ацилгалогенидов, катализируемой 4-N,N-диметиламинопиридином как и в случае ранее изученных N-алкилимидазолов, представляет собой многомаршрутный процесс, протекающий через образование в исходном состоянии H-комплексов нуклеофилов с промежуточным продуктом и исходным третичным амином. Реакционная способность таких комплексов с ариламинами близка таковой для фенолов, что объясняется разной степенью переноса протона в переходном состоянии.

Реакция ацилгалогенидов с ароматическими аминами, катализируемая третичными аминами, протекает в апротонных средах по нуклеофильному механизму (схема I) через промежуточный продукт (I), имеющий структуру ациламмониевой соли:



В катализируемой N-метилимидазолом реакции ацетилхлорида с п-нитроанилином в CH_2Cl_2 имеет место термодинамически выгодное образование промежуточного продукта - хлорида ацетил-3-метилимидазолия, что обуславливает сложный, многомаршрутный характер её скорость определяющей стадии ¹⁻⁴.

4-N,N-Диалкиламинопиридины составляют вторую группу оснований, способных в силу более высокой основности ($\text{pK}_a=9,36-9,6$) и склонности к резонансной стабилизации в большей степени, чем N-алкилимидазолы, к образованию в апротонных средах стабильных ациламмониевых солей. К тому же 4-N,N-диметиламинопиридин (ДМАП) представляет значительный интерес с точки зрения использования в качестве эффективного катализатора препаративного ацилирования ⁵⁻⁹.

Учитывая изложенное, в настоящей работе проведено прямое кинетическое исследование реакционной способности бензоил-4-N,N-диметиламинопиридиний хлорида (I) в реакции аминлиза в хлористом метиле.

Экспериментальная часть

Хлористый метилен ¹⁰, бензоилхлорид ¹¹ очищали по стандартным методикам. 4-N,N-Диметиламинопиридин синтезирован и очищен как в работе ¹², после чего подвергнут вакуумной су-блимации. п-Нитроанилин очищен трехкратной перекристаллизацией из воды и высушен в вакууме, т.пл. 147°C ¹³.

Бензоил-4-N,N-диметиламинопиридиний хлорид получен сливанием эквимольных количеств бензоилхлорида (БХ) и ДМАП в абсолютном диэтиловом эфире при комнатной температуре. Выпавшую соль многократно промывали на фильтре Шотта абсолютным эфиром и использовали без дальнейшей очистки. Т.пл. $147-148^\circ\text{C}$. Найдено %: C 64,23; H 5,68; Cl 13,40; N 10,89. Вычислено %: C 64,01; H 5,75; Cl 13,49; N 10,66.

Реакцию БХ с п-нитроанилином (ПНА) в присутствии ДМАП проводили в условиях псевдопервого порядка по амину. Контроль за ходом процесса осуществляли спектрофотометрически по убывли ПНА при 380 нм. Кинетические измерения проводили в хлористом метиле при 25° . Операции по синтезу (I), приготовлению

растворов, заполнению кварцевых кювет спектрофотометра, а также взятие навесок веществ проводили в тщательно высушенном с помощью фосфорного ангидрида боксе. Расчет наблюдаемых констант скорости осуществлялся по формуле:

$$k_H = \frac{I}{t} \ln \frac{D_0 - D_{\infty}}{D_t - D_{\infty}} \quad (2)$$

где D_{∞} , D_0 , D_t - оптическая плотность раствора по завершении реакции, в начальный момент времени и в момент времени t . Обработку линейных зависимостей проводили по методу наименьших квадратов ¹⁴.

Результаты кинетических измерений и их обсуждение

Реакция ацилгалогенидов $RCOX$ $X = (Cl, Br, I)$ с п-нитро-анилином при $RCOX \gg$ ПНА в хлористом метиле протекает по схеме:



Введение в систему ДМАП, 4-пиперидинопиридина ($pK_a = 9,6$) приводит к быстрому и необратимому образованию (I). В случае менее основного 4-морфолинопиридина ($pK_a = 8,6$) такая ситуация реализуется только при пятикратном избытке галогидного ацила. В УФ-спектре смеси исчезают полосы поглощения БХ, пиридинового основания и появляется новая полоса поглощения в области 300 - 320 нм. Аналогичная картина наблюдается и в ИК-области. ИК- и УФ-спектры, полученные при сливании эквимолярных растворов БХ и ДМАП совпадают со спектром ациламмониевой соли, полученной препаративно.

Кинетическая картина взаимодействия I с ариламином, как и реакция в целом, зависит от соотношения концентраций БХ, ДМАП и (I). Здесь целесообразно рассмотреть три случая I. $[БХ]_0 = [ДМАП]_0$. Как показано на рис. I, между величинами $k_H/[I]$ и $[ДМАП]_0$ (а, следовательно, $[I]$) существует линейная зависимость с наклоном $k_3 \neq 0$, что соответствует уравнению (4):

$$k_H = k_2[I] + k_3[I]^2 \quad (4)$$

где k_2 характеризует бимолекулярное взаимодействие (I) с ариламином; k_3 - взаимодействие (I) с ариламином при содействии второй молекулы соли.

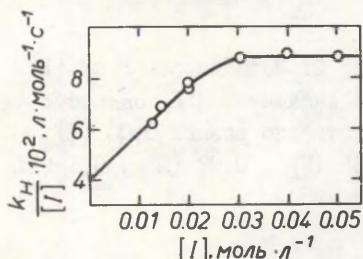


Рис.1. Зависимость $k_H/[I]$ от $[I]$ реакции бензоилхлорида с п-нитроанилином, катализируемой ДМАП, в хлористом метиле при 25°C. $[BX]_0 = [ДМАП]_0 = [I]$.

Однако, широкое варьирование концентрации (I) показало, что зависимость $k_H/[I]$ от $[I]$ линейна до концентрации соли равной примерно 0,025 моль · л⁻¹ (рис.1), выше которой наблюдается отрицательное отклонение от линейности, связанное с образованием более сложных ионных агрегатов (I), что будет подробно рассмотрено нами в отдельной публикации.

2. При $[BX]_0 > [ДМАП]_0$ наблюдаемая константа скорости, как и в реакциях, катализируемых N-алкилимидазолами ¹, описывается уравнением:

$$k_H = k_0[BX] + k_2[I] + k_3[I]^2 + k_4[BX][I] \quad (5)$$

Реакция протекает по четырем параллельным маршрутам, включающим помимо k_2 и k_3 , некаталитическую реакцию k_0 , а также маршрут k_4 , скорость которого зависит от концентрации $[I]$ и БХ. Из зависимости (6), к которой преобразуется уравнение (5), при условии $[I] = \text{const}$, были найдены величины k_3 и K:

$$y = \frac{k_H - k_0[BX]}{[I]} = K + k_3[I] \quad (6)$$

$$\text{где } K = k_2 + k_4[BX]\text{const} \quad (7)$$

Из уравнения (7) были найдены величины k_2 и k_4 (рис. 2, 3, табл. I). Хорошее совпадение значений k_2 , полученных в различных концентрационных условиях (уравнения (4) и (7)), а также совпадение констант k_3 , полученных из уравнений (4) и (6), подтверждают справедливость уравнения 5 *.

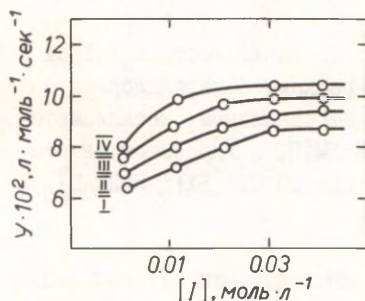


Рис. 2. Зависимость Y от $[I]$ при значениях $[BX]_{const}$ соответственно равных 0,03 (I), 0,05 (II), 0,08 (III), 0,1 (IV) (моль·л⁻¹).

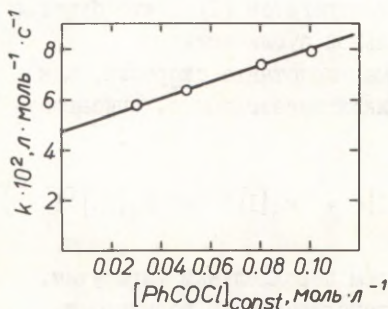


Рис. 3. Зависимость (ур.7) величин K (л·моль⁻¹·с⁻¹) от концентрации $[BX]_{const}$ для реакции ацилирования ПНА бензоилхлоридом в присутствии ДМАП в хлористом метиле при 25°C.

3. $[BX]_0 < [ДМАП]_0$. В этих условиях наблюдаемая константа скорости линейно зависит от концентрации $[ДМАП]$, равной $[ДМАП]_0 - [BX]_0$. Это указывает, что в исследуемой системе, кроме бимолекулярного маршрута, имеет место реакция, катализируемая ДМАП. Поэтому

$$k_H = k_2[I] + k_N[I][ДМАП] \quad (8)$$

* При концентрации (I) 0,025 моль·л⁻¹, как и в случае (4), наблюдается отрицательное отклонение от зависимости (6).

Из уравнения (8) было найдено значение k_N (табл. I).

Таким образом, кинетическая картина влияния ДМАП в реакции аминолиза бензоилхлорида в целом аналогична влиянию N-алкилимидазолов, с тем лишь отличием, что в случае ДМАП проявляется маршрут k_N .

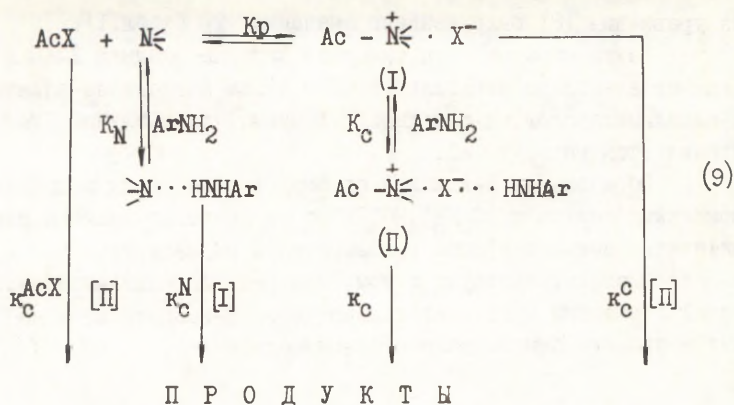
Образование H-комплексов аминов с модельными ациламмониевыми солями и $(C_2H_5)_4NCl^-$ и изучение влияния специфически сольватирующих растворителей на маршруты k_2 и k_3 свидетельствуют о том, что реакции ациламмониевых солей с аминами протекают только через H-комплексы, а не путём прямого бимолекулярного взаимодействия.

Таблица I.

Результаты кинетического исследования реакции ацилгалогенидов с п-нитроанилином, катализируемой N-метилимидазолом (I) и 4-N,N-диметиламинопиридином (2,3) в хлористом метиле при 25°C

№ п/п	RCOX	$k_0 \cdot 10^4$ л·моль ⁻¹ ·с ⁻¹	k_2 л·моль ⁻¹ ·с ⁻¹	k_3 л ² ·моль ⁻² ·с ⁻¹	k_4 л ² ·моль ⁻² ·с ⁻¹	k_N л ² ·моль ⁻² ·с ⁻¹
1.	C ₆ H ₅ COCl	1,0±0,2	0,11±0,02	17 ± 1	0	0
2.	C ₆ H ₅ COCl	1,0±0,2	0,042± ±0,003	1,79±0,06	0,22± ±0,04	2,52± ±0,12
3.	CH ₃ COCl	18 ± 2	0,02±0,001	2,1±0,2	-	-

С учетом образования таких комплексов общая схема аминолиза может быть представлена в виде :



и описана уравнением (10) :

$$\begin{aligned}
 K_\text{H} = & \frac{K_\text{C} \cdot K_\text{C}^{\text{I}} [\text{I}]}{1 + K_\text{C}^{\text{I}} [\text{I}] + K_\text{N} [\text{N}]} + \frac{K_\text{C}^{\text{C}} \cdot K_\text{C}^{\text{I}} [\text{I}]^2}{1 + K_\text{C}^{\text{I}} [\text{I}] + K_\text{N} [\text{N}]} + \\
 & + \frac{K_\text{C}^{\text{N}} \cdot K_\text{N} [\text{I}] \cdot [\text{N}]}{1 + K_\text{C}^{\text{I}} [\text{I}] + K_\text{N} [\text{N}]} + \frac{K_\text{C}^{\text{AcX}} \cdot K_\text{C}^{\text{I}} [\text{I}]}{1 + K_\text{C}^{\text{I}} [\text{I}] + K_\text{N} [\text{N}]}
 \end{aligned}
 \quad (10)$$

Из ИК-спектроскопических данных в области N-H-валентных колебаний нами были определены K_C образования H-комплексов различных ариламинов с хлоридом и бромидом тетраалкиламмония *. Полученные данные представлены в табл. 2. Очевидно, что выражение $K_\text{C} [\text{I}] + K_\text{N} [\text{N}] \ll 1$, и уравнение (10) переходит в (11):

$$K_\text{H} = K_\text{C} K_\text{C}^{\text{I}} [\text{I}] + K_\text{C}^{\text{C}} K_\text{C}^{\text{I}} [\text{I}]^2 + K_\text{C}^{\text{N}} K_\text{N} [\text{I}] \cdot [\text{N}] + K_\text{C}^{\text{AcX}} K_\text{C}^{\text{I}} [\text{I}] \quad (11)$$

$$\text{где } K_\text{C} K_\text{C}^{\text{I}} = K_2; \quad K_\text{C}^{\text{C}} K_\text{C}^{\text{I}} = K_3; \quad K_\text{C}^{\text{N}} K_\text{N} = K_\text{N}; \quad K_\text{C}^{\text{AcX}} K_\text{C}^{\text{I}} = K_4 \quad (12)$$

* Как было показано в ¹⁷ на примере H-комплексов фенолов с хлорид-ионами, значение K_C практически не зависит от природы катиона соли.

Таблица 2

Константы равновесия образования водородносвязанных комплексов K_C и K_N (№6) в хлористом метиле, 25°C

№ п/п	Протонодонор	pKa	Протоноакцептор	Константа равновесия л/моль
1.	3,5-Динитро-анилин	0,22	Тетраэтиламмоний хлорид	38 *
2.	п-Нитроанилин	1,02	Тетраэтиламмоний хлорид	24 ± 3
3.			Тетраэтиламмоний бромид	$16 \pm 1,5$
4.	3-Нитро-5-карбометокси-анилин	1,54	Тетраэтиламмоний хлорид	$14 \pm 1,2$
5.	м-Нитроанилин	2,50	Тетраэтиламмоний хлорид	10 ± 1 * *
6.			4-N,N-Диметил-аминопиридин	1,62
7.	4-Аминоазобен-зол	2,82	Тетраэтиламмоний хлорид	$8,2 \pm 0,7$

* Рассчитано из зависимости Бренстеда.

* * Измерено И.А.Белоусовой 18.

Из выражения (12) были получены константы скорости внутримолекулярного K_C и всех межмолекулярных каталитических маршрутов K_C , K_C^N , K_C^{AcX} (табл.3).

Таким образом, роль комплексобразования аминов в принципе не отличается от фенолов, однако в силу меньшей прочности водородносвязанных комплексов, их образование не имеет в аминолизе кинетического проявления.

Рассмотрим структурно-химические особенности отдельных маршрутов.

В табл.3 приведены кинетические данные, характеризующие зависимость констант k_c и k_c^C в реакции аминолита, k_c и k_c^N в реакциях фенолиза от значений pK_a соответствующих нуклеофилов и уходящих групп в промежуточных галогенидах апиламмония. На рис.4 представлены логарифмические зависимости реакционной способности k_c Н-комплексов анилинов и фенолов от pK_a этих нуклеофилов в воде, характеризующиеся для замещенных анилинов наклоном $\beta = 0,45$ и $-0,45$ для фенолов¹⁹. Для реакции алкоголиза величина β может быть оценена из данных работы²⁰ для замещенных бензиловых спиртов, откуда, несмотря на узкий интервал структурных изменений, явно прослеживается тенденция электроноакцепторных заместителей в молекуле спирта увеличивать, в противоположность аминам, реакционную способность комплекса промежуточный продукт-спирт.

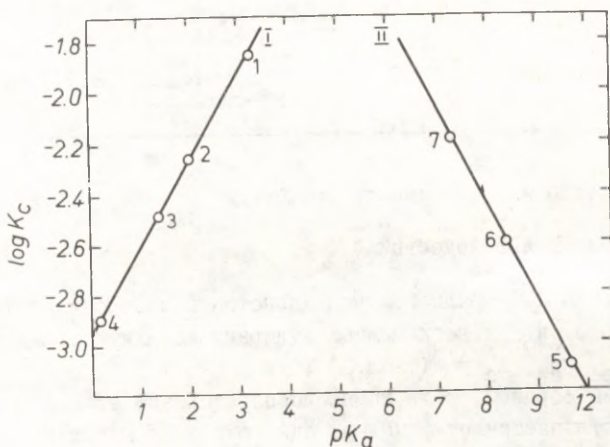


Рис. 4. Зависимость констант k_c реакции анилинов (I) и фенолов (II) с I-ацетил-3-метилимидазолий хлоридом от pK_a нуклеофилов в воде. Нумерация точек отвечает номерам соединений в табл. 3.

Таблица 3

Значения k_c ; k_c^C и k_c^N для реакции хлоридов I-ацил-3-метилимидазолия с анилинами и фенолами в CH_2Cl_2 , 25°C

№ п/п	нуклеофил	I-ацил-3-метилимидазолий хлорид			I-(п-метоксибензоил)-3-метилимидазолий хлорид		pK-ну- клео- фила
		$k_c \cdot 10^3$	k_c^C	k_c^N	$k_c \cdot 10^3$	k_c^N	
		с-I	л. моль ⁻¹ с-I	л. моль ⁻¹ с-I	с-I	л. моль ⁻¹ с-I	
1.	4-Аминоазобензол	17 ± 7	115 ± 3	0	-	-	2,82
2.	3-Нитро-5-карбо- метоксанилин	$5,2 \pm 1,8$	$6,4 \pm 3$	0	-	-	1,54
3.	4-Нитроанилин	$3 \pm 0,3$	$0,82 \pm 0,04$	0	$1,3 \pm 0,2$	-	1,02
4.	3,5-Динитроанилин	$1,2 \pm 0,1$	$0,13 \pm 0,1$	0	-	-	0,22
5.	β -Нафтол	$0,89 \pm 0,15$	0	11 ± 1	$0,93 \pm 0,2$	13 ± 1	9,63
6.	4-Фенилазофенол	$2,8 \pm 0,5$	0	104 ± 8	$2,0 \pm 0,4$	242 ± 12	8,20
7.	4-Нитрофенилазо- фенол	$1,5 \pm 0,15$	0	1400 ± 70	$7,0 \pm 0,15$	3500 ± 100	7,20

*

Значение k_c для реакции бензильного, 4-метил- и Br-бензильных спиртов, полученные пересчетом данных ²⁰ для 4-N,N-диметиламинобензоил-(4-N,N-диметиламино) пиридиний хлорида на 4-метоксибензойное производное, равны $5 \cdot 10^{-4} \text{ с}^{-1}$.

Эти данные позволяют оценить β для бензиловых спиртов величиной $\sim 0 \div -0,1$.

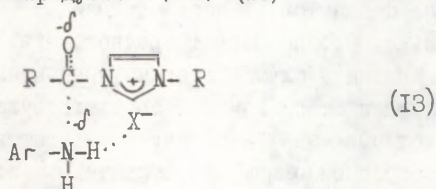
Таким образом, при переходе от аминов к спиртам и фенолам, т.е. от соединений с основными свойствами к соединениям, проявляющим кислотные свойства, имеет место инверсия знака чувствительности реакции к влиянию заместителей. В то же время, при столь различном характере чувствительности реакций ациламмоний галогенидов к природе нуклеофила, чувствительность к основности уходящей группы характеризуется поразительно близкими значениями β , составляющими $-0,20$ и $-0,16$ для аминолиза (соответственно I-ацетил- и I-бензоил-3-алкил-имидазолий хлоридов), $-0,2$ для алкоголиза (рассчитано по данным работы ²² для пропанолиза I-циннамоил-3-метилимидазолий- и I-циннамоил-4-N,N-диметиламинопиридиний хлоридов в хлористом метиле и $-0,26$ для фенолиза. Столь низкая чувствительность к природе уходящей группы в ациламмоний галогенидах не связана с влиянием на неё аниона и характера сольватации, поскольку значения β , близкие указанным, получены нами для аминолиза соответствующих катионов ациламмония в ацетонитриле ($\beta = -0,15$) ²³ и гидролиза в воде (~ 0) ²⁴.

Таким образом, взаимодействие ациламмоний галогенидов с низкоосновными нуклеофилами различной природы не зависит от кислотности их протона, степени его переноса в переходном состоянии^{II} характеризуется практически одинаковой и крайне низкой чувствительностью к природе уходящей группы.

Приведенные данные свидетельствуют о том, что в переходном состоянии всех рассматриваемых реакций доминирующим фактором является формирование связи C-N с N-комплексом, зависящее от характера стабилизирующего влияния взаимодействия $\text{Ni} \cdots \text{H} \cdots \text{X}^-$, что определяется природой конечного нуклеофила.

В реакциях аминолиза значение $\beta > 0$ по структуре аминов соответствует влиянию заместителей в водородносвязанном комплексе амин-анион непосредственно на нуклеофильную атаку реакционного центра и формирование связи C-N. Характер чувствительности реакции водородносвязанного комплекса ариламинов с промежуточным продуктом к структуре атакующего нуклеофила и уходящей группы в катионе отвечает реагентоподобному пе-

реходному состоянию с заметным образованием, но малой степенью разрыва реагирующих связей. Высокая же чувствительность к влиянию заместителей в ацильной части катиона $\beta = 2,1$ ²⁵ свидетельствует о заметно изменяющемся порядке связи $C = O$ в переходном состоянии, что указывает на его сходство с тетраэдрическим промежуточным продуктом (ТПП) (I3)



Совершенно иная картина имеет место в реакциях спиртов и фенолов. В этом случае значение $\beta < 0$ по структуре нуклеофила, отвечающее ускоряющему влиянию электроноакцепторных заместителей, свидетельствует о возникновении на его реакционном центре эффективного отрицательного заряда, значительно большего по абсолютной величине в случае фенолов, чем спиртов. Это означает, что реакционная способность указанных соединений, в отличие от аминов, определяется прежде всего их кислотностью, а не нуклеофильностью. Следовательно, в случае таких "кислых" нуклеофилов доминирующим фактором в формировании переходного состояния является смещение протона, степень которого возрастает при переходе от спиртов к фенолам. Очевидно, в ряду ариламины – спирты – фенолы анион промежуточного продукта обуславливает смещение или перенос протона в переходном состоянии в той степени, которая необходима для достижения эффективной нуклеофильности $Ni-H$, обеспечивающей вытеснение им уходящей группы. Это соответствует тому обстоятельству, что уровни реакционной способности N -комплексов ариламинов, спиртов и фенолов в столь широком диапазоне изменения их нуклеофильных свойств, фактически перекрываются (рис.4). Это означает, что значительные различия в нуклеофильности рассматриваемого ряда ацилируемых соединений в исходном состоянии компенсируются всё более существенным смещением протона к аниону промежуточного продукта, вследствие чего стабилизация переходного состояния во всех случаях

различается незначительно. С этим, вероятно, связана практически одинаковая степень разрыва связи с уходящей группой в переходном состоянии.

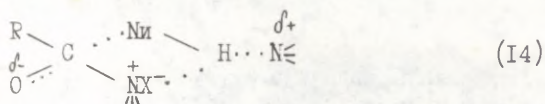
Однако значительное смещение протона к аниону не выгодно термодинамически, и **хотя фенолы**, в отличие от аминов, способны к полной передаче протона, последний даже в этом случае смещается, в соответствии со значениями β , незначительно. Это позволяет предположить, что каталитический эффект аниона в случае всех изученных низкоосновных нуклеофилов обусловлен стабилизацией соответствующих переходных состояний за счет смещения, а не переноса протона и увеличения прочности водородной связи, по сравнению с исходными комплексами $\text{Ni-H} \cdots \text{X}^- \rightleftharpoons \text{N}^+\text{Ac}$ (13). Поэтому разрыв связи с уходящей группой в промежуточном продукте не связан с переносом протона, а скорее всего предшествует ему, так как положительно заряженный азотистый фрагмент соли основностью не обладает. По-видимому, образование новой связи и разрыв старой происходят согласованно со смещением протона к аниону, обеспечивающим соответствующий уровень нуклеофильности реагирующему нуклеофилу. Таким образом, переходные состояния маршрута K_C сходны по характеру формирующейся и разрывающейся связей, что обусловлено отличиями в степени смещения протона от нуклеофила к аниону промежуточного продукта, которая изменяется в ряду фенолы > спирты > ариламины. Очевидно, в реакциях с достаточно сильными нуклеофилами, например, аминами, соответствующей основности для замещения уходящей группы в ацилламмониевых солях участия протона нуклеофила вообще не требуется. Это подтверждается протеканием реакций симметричного обмена²⁵. С другой стороны, в кинетическом проявлении функций комплекса $\text{Ni-H} \cdots \text{X}^- \rightleftharpoons \text{N}^+\text{Ac}$ в реакциях фенолиза и алкоголиза, с одной стороны, и аминоллиза – с другой, имеются и существенные отличия. Если в первых двух процессах маршрут K_C является единственной реакцией, обеспечиваемой участием этого комплекса, причем вклад её в общую скорость не более 15 – 20 %, то в аминоллизе имеют место ещё два, формально тримолекулярных маршрута: $\text{k}_3 = \text{k}_\text{C} \cdot \text{K}_\text{C}$ и $\text{k}_4 = \text{k}_\text{C}^{\text{AcX}} \cdot \text{K}_\text{C}$, механизмы которых были обсуждены ранее I-4. При этом важно подчеркнуть, что

маршрут k_2 наряду с k_3 , вносит основной вклад в скорость медленной стадии каталитических реакций аминолиза, исключая реакции ацетилабромида I. Отсутствие же в реакциях фенолиза и алкоголиза маршрутов, соответствующих k_3 и k_4 в аминолизе, ещё раз свидетельствует о том, что в случае столь слабых нуклеофилов, как спирты и фенолы, смещение протона, обеспечиваемое анионом в межмолекулярном процессе явно недостаточно для заметного снижения энергетического барьера реакции. Значительный же перенос протона обеспечивается по термодинамическим соображениям только третичным амином. Этим объясняется факт проявления эффективного катализа k_c^N N-алкилимидазолами в фенолизе и ДМАП в алкоголизе 20.

Проявление катализа третичным амином в реакции аминолиза зависит от природы аниона в I и третичного амина. В реакциях, катализируемых N-алкилимидазолами, он проявляется только в случае бромидов I-ацетил-3-алкилимидазолия, но отсутствует в случае хлоридов I. Катализ более основным ДМАП наблюдается уже и для соответствующих хлоридов (табл.3).

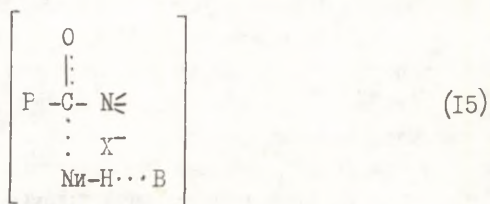
Механизм каталитического влияния третичного амина во всех рассматриваемых реакциях очевиден: третичный амин функционирует как общий основной катализатор, поскольку нуклеофильная атака на соответствующий ациламмоний галогенид представляет собой симметричную реакцию обмена, протекающую много быстрее, чем атака комплексом нуклеофил - третичный амин. По-видимому, различия между переходными состояниями реакций различных нуклеофилов состоят прежде всего в характере и степени переноса протона.

Исходя из того, что в реакциях низкоосновных нуклеофилов NiH (здесь $NiH = ArNH_2$) с (I) участвуют только водородно-связанные комплексы, в обобщенном виде переходные состояния реакций с участием аниона I и третичного амина можно представить в виде



где взаимодействия $X^- \cdots H-Ni$ и $Ni-H \cdots N \leq$ являются конкурирующими.

рующими. Вклад каждого из этих взаимодействий определяется характером и степенью переноса протона в переходном состоянии и никак не коррелируются с основностью. Это не удивительно, поскольку в аминолизе перенос протона не может быть значительным, а больше соответствует протонакцепторной активности K_C (табл.3). Но даже в случае бромидов, где наблюдается катализ N-метилимидазолом, $K_C^{Br} > K_C^{Im}$ *, хотя различия здесь значительно меньше, чем для пары хлорид-ион - N-метилимидазол. Это означает, что перенос протона от ариламина к третичному амину начинает превалировать над переносом к галогенид-иону только в переходном состоянии, но степень этого переноса, как и в катализе анионом второй молекулы соли (K_C^C), соответствует только поляризации связи N-H. Поэтому переходные состояния реакций аминолиза с участием комплексов $Ni-H \cdots X^- \rightleftharpoons N^+Ac$ (K_C^C) и $Ni-H \cdots N \rightleftharpoons (K_C^N)$ имеют родственное строение (I5)



где B = третичный амин или вторая молекула промежуточного продукта.

*

По данным Ю.С.Симаненко $K_C^{Im} \sim 1,0 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1}$.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Лапшин С.А., Дадали В.А., Симаненко Ю.С., Литвиненко Л.М. ЖорХ, 1977, т.13, № 3, с.586.
2. Лапшин С.А., Дадали В.А., Литвиненко Л.М., Симаненко Ю.С. ЖорХ, 1981, т.17, № 9, с.1983.

3. В.А. Дадали. -- В сб.: "Межмолекулярные взаимодействия и реакционная способность органических соединений". Киев, Наукова думка, 1983, с. 33.
4. В.А. Дадали, Т.М. Зубарева, Л.М. Литвиненко, Ю.С. Симаненко. ЖорХ, 1983, т. 19, с. 1468.
5. В.А. Дадали, Л.М. Литвиненко, Ю.С. Симаненко. ЖорХ, 1984, т. 20, № 8, с. 1695.
6. W. Steglich, G. Hüfle, Angew. Chem., Mt. Ed., 8, 981 (1969).
7. G. Hüfle, W. Steglich, Angew. Chem. Int. Ed., 17, 569 (1978).
8. A. Hassner, L. Krepski, V. Alexanian, Tetrahedron, 34, 2069 (1978).
9. E.F.V. Scriven, Chem. Soc. Rev., 12, No 2, 129 (1983).
10. A. Maryott, M. Hobbs, P. Gross, J. Am. Chem. Soc., 63, 659 (1941).
11. J. Briody, D. Satchell, J. Chem. Soc., 21, 3724 (1964).
12. D. Jerchel, D. Jacob, Chem. Ber., 91, 1266 (1958).
13. Справочник химика. Изд-во "Химия". М.-Л., т. 2, 1964, с. 430.
14. Л.М. Батунер, М.Е. Позин. Математические методы в химической технике. Госхимиздат. М., 1955, с. 488.
15. В.А. Дадали, С.А. Лапшин, Ю.С. Симаненко, Л.М. Литвиненко, Н.И. Тищенко. ЖорХ, 1978, т. 14, № 2, с. 2244.
16. В.А. Дадали, Т.М. Зубарева, Л.М. Литвиненко, Ю.С. Симаненко, В.В. Гладских. ДАН СССР, 1981, 257, 1135.
17. В.А. Дадали, В.А. Савелова, Т.М. Зубарева, И.А. Белоусова, Л.М. Литвиненко. ЖорХ, 1985, т. 21, вып. 1, с. 135.
18. И.А. Белоусова. Автореф. дисс... канд. хим. наук. Донецк, 1985, 23 с.
19. Т.М. Зубарева. Автореф. дис.... канд. хим. наук. Донецк, 1984, 24 с.
20. Л.И. Бондаренко. Автореф. дис.... канд. хим. наук. Донецк, 1984, 22 с.
21. K.A. Connors, C.J. Eboka, Pharm. Sci., 72, No 4, 366 (1983).

22. А.И. Костин, В.А. Дадали, А.С. Савченко. — В кн.: Новое в химии азинов. Свердловск, 1985. Тез. докл. II Всесоюзн. совещ. по химии азинов, 1985, с. 183.
23. В.Ж. Cour Salin, Canad. J. Chem., 61, No 9, 2051 (1983).
24. В.А. Дадали, Т.М. Зубарева, Л.М. Литвиненко, Ю.С. Симаненко. ЖорХ, 1984, т. 20, № 6, с. 1246.

УДК. 547.821

РАЗДЕЛЬНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕАКЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ ИОНОВ И ИОННЫХ ПАР АЦЕТИЛИМИДАЗОЛИЕВЫХ СОЛЕЙ В РЕАКЦИИ АМИНОЛИЗА

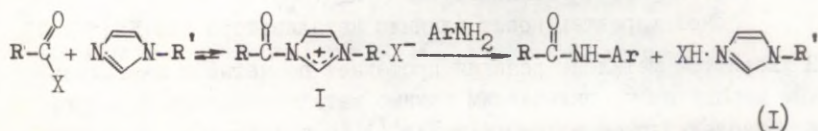
А.И.Костин, В.А.Дадали

Донецкий государственный университет, г.Донецк

Поступило 12 августа 1986 г.

Проведено раздельное определение реакционной способности ионных форм I-ацетил-3-метилимидазолиевых солей - промежуточных продуктов катализируемого N-метилимидазолом аминолита ацетилхлорида в ацетонитриле. Показано, что в реакциях ионных пар анионы влияют по двум механизмам: стабилизируют переходное состояние за счет образования водородной связи с ариламином хлорид-ион и дестабилизируют за счет стерических препятствий атаке нуклеофила (ClO_4^- , $\text{B}(\text{C}_6\text{H}_5)_4^-$). В реакциях катионов фактором общеоосновного содействия является растворитель, специфически сольватирующий атакующий нуклеофил.

В серии предыдущих исследований I-3 нами был разработан новый подход к изучению механизма нуклеофильного катализа в реакциях ацильного переноса в низкополярных средах. Используя способность N-замещенных имидазолов образовывать резонансно стабилизированные ациламмониевые соли в реакциях аминолита ацилгалогенидов, катализируемого N-алкилимидазолами.



и установив, что они достаточно стабильны даже в относительно низкополярных средах (CH_2Cl_2 , CHCl_3 и т.д.), было проведено прямое изучение реакционной способности этих соединений, как

промежуточных продуктов нуклеофильного катализа Π -замещенными имидазолами в реакциях аминолита и фенолита арилгалогенидов. В низкополярных средах промежуточный продукт существует практически полностью в виде ионных пар и более сложных ионных ассоциатов, а его реакционная способность определяется как структурой катиона, так природой и характером сольватации соответствующего аниона, т.е. контролируется одновременно двумя структурными компонентами системы. В то же время несомненный интерес представляет получение информации о реакционной способности как ионной пары, так и катиона промежуточного продукта, поскольку ионный ассоциат часто разительно отличается по своим свойствам от свободного иона, хотя активное начало в обоих случаях одно и то же. Эта задача не может быть решена для реакции в низкополярных средах, поскольку в этих растворителях промежуточные продукты практически полностью ассоциированы. Поэтому нами был использован в качестве растворителя сравнительно полярный ацетонитрил ($\epsilon = 36,1$), в качестве субстрата использовался 4-аминоазобензол (ААБ).

В специальных опытах было показано, что, как и следовало ожидать, в ацетонитриле указанные соли образуются количественно в изученном интервале концентраций компонентов. Это позволяет непосредственно изучить особенности механизма превращения промежуточного продукта в ацетонитриле, по сравнению с малополярным хлористым метиленом ($\epsilon = 8,9$).

Проведение серии кинетических измерений при равных начальных концентрациях хлористого ацетила $[AcCl]$ и варьируемых концентрациях N -метилимидазола $[N\equiv]$ при условии $[N\equiv]_0 > [AcCl]_0$ показывает, что наблюдаемая константа скорости второго порядка практически не зависит от концентрации $[N\equiv]$, равной $[N\equiv]_0 - [AcCl]_0$. Это указывает, что в исследуемой системе отсутствует маршрут, катализируемый $N\equiv (k_M)$.

Иной характер носит влияние катализатора при $[N\equiv]_0 < [AcCl]_0$

В хлористом метиле реакция протекает по четырём параллельным маршрутам², включающим помимо каталитического маршрута k_0 бимолекулярное взаимодействие (I) с ариламином k_2 , маршрут k_3 - взаимодействие (I) с ариламином при участии второй молекулы соли и маршрут k_4 , представляющий собой взаимодей-

ствие AcCl с ариламином, катализируемое промежуточным продуктом I :

$$k_H = k_0[\text{AcCl}] + k_2[\text{I}] + k_3[\text{I}]^2 + k_4[\text{AcCl}][\text{I}] \quad (2)$$

или

$$y = \frac{k_H - k_0[\text{AcCl}]_{\text{const}}}{[\text{I}]} = k + k_3[\text{I}] \quad (3)$$

откуда могут быть найдены величины k и k_3

$$\text{где } k = k_2 + k_4[\text{AcCl}]_{\text{const}} \quad (4)$$

Варьируя от опыта к опыту величину $[\text{AcCl}]_{\text{const}}$, из зависимости (3) был получен набор параллельных прямых (рис. I), характеризующихся наклоном $k_3 \approx 0$, свидетельствующим об отсутствии указанного маршрута, и различными значениями отсекаемых отрезков k . Последнее свидетельствует о существовании маршрута k_4 . Поскольку маршрут k_4 не имеет прямого отношения к нуклеофильному механизму катализа, на его обсуждении мы останавливаться не будем.

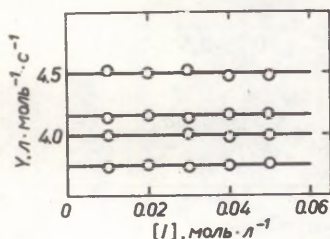


Рис. I. Зависимость (3) при значениях $[\text{AcCl}]_{\text{const}}$, соответственно равных 1 (0,03); 2 (0,05); 3 (0,08); 4 (0,1) моль.л⁻¹ в апетонитриле при 25°.

Таким образом, анализ характера концентрационной зависимости k_H от $[\text{N} \rightleftharpoons]_0$ и $[\text{AcCl}]_0$ показывает, что реакция I с ариламином при условии $[\text{N} \rightleftharpoons]_0 \gg [\text{AcCl}]_0$ протекает по одному маршруту - бимолекулярному взаимодействию I с ариламином.

Однако ациламмониевые соли существуют в ацетонитриле в виде равновесной смеси ионов, ионных пар и других ассоциатов⁴. Для определения соотношения ионных форм I-ацетил-3-метилимидазолиевых солей, были проведены их кондуктометрические исследования. Полученные результаты приведены в табл. I.

Таблица I.

Параметры ассоциации и константы скорости взаимодействия ионов и ионных пар I-ацетил-3-метилимидазолиевых солей вида

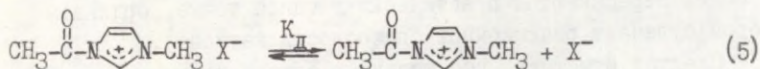
$\text{CH}_3 - \text{C}(=\text{O}) - \text{N}^+ \text{---} \text{N} - \text{CH}_3 \text{X}^-$, где $\text{X}^- = \text{Cl}^-$ (I); Br^- (II); ClO_4^- (III); $\text{B}(\text{C}_6\text{H}_5)_4^-$ (IV) с 4-аминоазобензолом в ацетонитриле при 25° с

№ п/п	λ_0	λ_0^+	λ_0^{5-}	K_D моль·л ⁻¹	$K_{\text{и.п.}}$ л·моль ⁻¹	$K_{\text{и.}}$ л·моль ⁻¹	$\frac{K_{\text{и.п.}}}{K_{\text{и.}}}$
I.	164,28	72,68	91,6	0,0096± ±0,0004	3,4	0,81	4,2
II.	173,37	72,67	100,7	0,0153± ±0,0004	0,21	0,84	0,25
III.	175,44	72,44	103,0	0,0414± ±0,0006	0	0,79	—
IV.	132,88	74,68	58,2	0,0529- ±0,0008	0	0,82	—

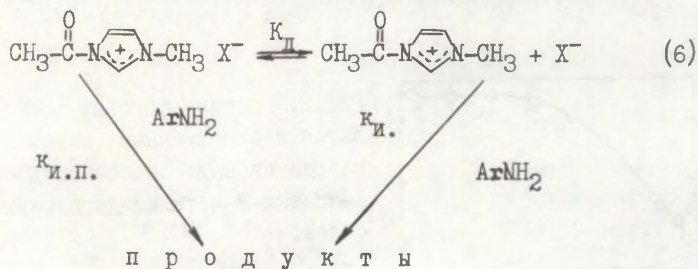
Примечание: Размерность λ (Ом⁻¹·г-экв⁻¹·см²).

Из этих данных следует, что рассчитанная из правила аддитивности Кольрауша подвижность I-ацетил-3-метилимидазолий катиона (λ_0^+) для солей с различными анионами практически совпадает, что свидетельствует о корректности полученных результатов. Предельная эквивалентная электропроводность изу

ченных солей (λ_0) изменяется в интервале 140–180 Ом⁻¹г-экв⁻¹ см², что согласуется с имеющимися в литературе сведениями для тетраалкиламмониевых солей⁵⁻⁶ – структурных аналогов исследуемых соединений. Зависимость $\lambda = f(\sqrt{c})$ во всех случаях имеет линейный характер. Отсюда следует, что I-ацетил-3-метилимидазолиевые соли находятся в ацетонитриле в виде равновесной смеси ионных пар и ионов (схема 5), а более крупные ионные ассоциаты, по-видимому, отсутствуют⁷.



Учитывая изложенное можно считать, что взаимодействие I-ацетил-3-метилимидазолиевых солей с ААБ протекает по схеме:



а наблюдаемая константа скорости второго порядка определяется уравнением Акри

$$k_2 = k_{\text{и.}} \alpha + k_{\text{и.п.}} (1 - \alpha) \quad (7)$$

где $k_{\text{и.}}$ и $k_{\text{и.п.}}$ – константы скорости соответственно ацил-аммониевого катиона и ионной пары соли, α – степень диссоциации ионной пары.

Для проверки справедливости уравнения (7), значения $k_{\text{и.}}$ и $k_{\text{и.п.}}$ определялись также из кинетических данных по влиянию фоновых электролитов с одноименными анионами ($(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{N}^+\text{Cl}^-$, $(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{N}^+\text{Br}^-$, ZnClO_4). Исходная концентрация

ациламмониевых солей во всех случаях была равной $\approx 1 \cdot 10^{-3}$ моль \cdot л $^{-1}$, что соответствует их практически полной диссоциации ($\alpha \geq 0,95$). Из полученных зависимостей (рис.2) следует, что при увеличении концентрации одноименного аниона значение k_2 стремятся к величинам, равным реакционной способности соответствующих ионных пар. Полученные значения $k_{и.п.}$ и $k_{и.}$ близки величинам, найденным из уравнения (7), (табл. I). Как следует из приведенных данных, значения $k_{и.}$ для катиона I-ацетил-3-метилимидазолия совпадают (зависимости на рис.2 для различных солей пересекаются практически в одной точке, ордината которой отвечает реакционной способности катиона).

Следует отметить, что только в случае хлорида I-ацетил-3-метилимидазолия $k_{и.п.} > k_{и.}$, тогда как для солей с другими анионами это соотношение обратное, причем для перхлората и тетрафенилбората $k_{и.п.} = 0$ и реакция идет только за счет катиона.

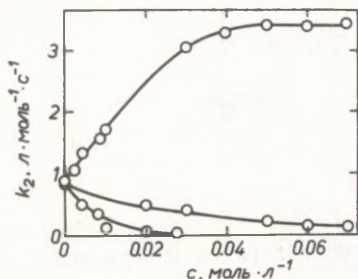


Рис.2. Влияние фоновых электролитов с одноименными анионами на реакционную способность I-ацетил-3-метилимидазолиевых солей.

1- $(C_2H_5)_4N^+Cl^-$; 2- $(C_2H_5)_4N^+Br^-$; 3- $ZnClO_4$. Номера ациламмониевых солей соответствуют табл. I.

Данные для хлорида на первый взгляд противоречат представлению о том, что ионные пары в общем случае менее реакционно-способны, чем соответствующие свободные ионы. Поэтому есть основание предположить, что в случае хлорид-иона проявляется какой-то дополнительный, по сравнению с другими анионами, фактор стабилизации переходного состояния. Как было показано ранее⁸, в низкополярных средах хлорид-ион оказывает стабилизирующее влияние за счет водородной связи с атакующими нуклеофилами. Есть основание считать, что в ацетонитриле в ионной па-

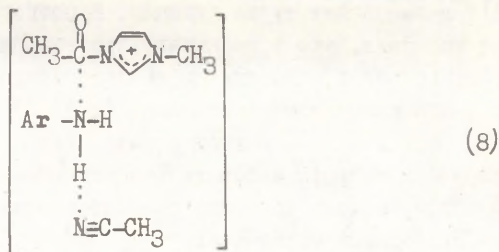
ре (I) он выполняет ту же функцию. В пользу этого свидетельствует тот факт, что в реакциях, протекающих без переноса протона, например, хлорида дифенилкарбамоил-N-метилимидазолия с 4-N,N-диметиламинопиридином (табл.2) выполняется соотношение $k_{и.} > k_{и.п.}$. В этом случае, как и в реакции бромиды, перхлората и тетрафенилбората 1-ацетил-3-метилимидазолия с ариламины, анионы тормозят реакцию ионных пар, по сравнению со свободными катионами.

Таблица 2.

Взаимодействие хлорида дифенилкарбамоил-N-метилимидазолия с 4-N,N-диметиламинопиридином в ацетонитриле при 25°.

	k_2 л·моль ⁻¹ ·с ⁻¹	$k_{и.}$ л·моль ⁻¹ ·с ⁻¹	$k_{и.п.}$ л·моль ⁻¹ ·с ⁻¹	$\frac{k_{и.}}{k_{и.п.}}$
 I, 59	0,662			
I, 65	0,764			
I, 71	0,802	1,87	1,00	1,87
I, 73	0,814			
I, 77	0,834			

Как уже отмечалось, в низкополярных средах реакция с ариламины протекает при общеосновном содействии слабо сольватированного аниона ионной пары. Для маршрута $k_{и.}$ в ацетонитриле роль такого фактора выполняет, очевидно, сам растворитель, образующий водородносвязанные комплексы с ариламины, что способствует повышению их нуклеофильной реакционной способности. В то же время в силу протонаакцепторной активности и высокой полярности ацетонитрил препятствует образованию таких ассоциатов с другими, находящимися в системе, основаниями⁹. Видимо, говорить о реакционной способности катиона как такового в среде ацетонитрила и аналогичных растворителей едва ли возможно.



Реакционная способность свободного ациламмониевого катиона с низкоосновными нуклеофилами неотделима от общесосновного содействия растворителя. Поэтому в реакциях ионных пар ацетонитрил следует рассматривать как протоноакцептор, конкурирующий с анионом. При этом, в случае более объёмных анионов (Br^- , ClO_4^- , $\text{B}(\text{C}_6\text{H}_5)_4^-$), протоноакцепторная активность растворителя является доминирующей, анион лишь создает стерические препятствия, тогда как в случае хлорид-иона, как более сильного протоноакцептора, либо преобладает его влияние, либо оба механизма реализуются параллельно. С этим согласуется относительно небольшое увеличение реакционной способности (~в 4 раза) ионной пары по сравнению с катионом.

Для сравнения отметим, что в случае ацилоксипиридиновых солей, где реакционный центр удален от аниона, ионные пары с хлорид и бромид ионами и ацилоксипиридиновый катион имеют практически одинаковую реакционную способность. Например, в реакции N-ацетил-4-метоксипиридиний галогенидов

$[\text{CH}_3-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{N}^+-\text{C}_4\text{H}_4-\text{O}-\text{CH}_3] \cdot \text{X}^-$, где $\text{X}^- = \text{Cl}^-$ и Br^- , с 4-аминоазобензолом $k_{\text{и.}} = k_{\text{и.п.}} = 1,48 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$. Подробное сравнение реакционной способности ациламмониевых и ацилоксиаммониевых промежуточных продуктов нуклеофильного катализа будет обсуждено в последующих публикациях.

Экспериментальная часть

Ацетилхлорид, ацетилбромид ¹⁰, дифенилкарбамоилхлорид ¹¹ синтезировались и очищались по стандартным методикам. 3-Метил-

имидазол ¹², 4-N,N-диметиламинопиридин ¹³ синтезировались и очищались как описано в литературе. Ациламмониевые соли получали по методике, описанной в работе ¹¹, 4-аминоазобензол очищали по стандартной методике ¹⁴, УФ-спектры снимались на спектрофотометре "Specord UV Vis" в кварцевых кюветах толщиной 1 см.

Реакции проводились в условиях псевдопервого порядка по ариламину. Контроль за ходом процесса осуществлялся спектрофотометрически по убыви ариламина при 390 нм. В случае взаимодействия хлорида дифенилкарбамоилимидазолия с 4-N,N-диметиламинопиридином контроль осуществлялся по накоплению хлорида дифенилкарбамоил-4-N,N-диметиламинопиридиния при 320 нм.

Наблюдаемые константы скорости k_2 рассчитывались по формуле

$$k_2 = \frac{1}{a \cdot t} \ln \frac{D_0 - D_\infty}{D_t - D_\infty} \quad (9)$$

где D_0 , D_∞ и D_t - оптическая плотность растворов в начальный момент времени, по завершении реакции и в момент времени t , a - концентрация ациламмониевой соли.

Расчет линейных зависимостей осуществлялся по методу наименьших квадратов.

Кондуктометрические измерения проводили с помощью дифференциально-трансформаторного моста ¹⁵. Для измерений использовалась термостатированная ячейка с платиновыми плоскопараллельными электродами, покрытыми платиновой чернью. Чистота растворителя контролировалась кондуктометрически и совпадала с литературными данными ¹⁶. Растворы готовились объемно-весовым методом с последующим разбавлением. Измерение электропроводности растворов проводились в интервале концентраций электролита $5 \cdot 10^{-2} \div 1 \cdot 10^{-4}$ М при 25°C. Термостатирование проводили в водяном термостате с точностью 0,02°C. Ввиду большой гигроскопичности солей приготовление растворов, измерение электропроводности, заполнение кювет спектрофотометра, а также взятие навесок веществ проводили в тщательно высушенном с помощью фосфорного ангидрида боксе. Измерения проводили в течение не более 5 часов после очистки растворителя.

Из концентрационной зависимости электропроводности по методам Шедловского¹⁷ и Фуосса-Онзагера-Скиннера¹⁸ на ЭВМ ЕС-1022 были рассчитаны значения констант диссоциации. Оба метода дают близкие значения.

Исходя из значений констант диссоциации, исходные концентрации ацетилимидазолиевых солей в кинетических исследованиях подбирались таким образом, чтобы значения α составляли 50-80 %, т.е. концентрации ионов и ионных пар были соизмеримыми.

Литература

1. В.А. Дадали, Л.М. Литвиненко, С.А. Лапшин, Ю.С. Симаненко. - Докл. АН СССР, т. 219, № 5, 1161-1164, (1974).
2. С.А. Лапшин, В.А. Дадали, Ю.С. Симаненко, Л.М. Литвиненко. - Ж. орган. химии, т. 13, № 3, 586-594, (1977).
3. С.А. Лапшин, В.А. Дадали, Л.М. Литвиненко, Ю.С. Симаненко. - Ж. орган. химии, т. 17, № 3, 1938-1944, (1981).
4. V.I. Rybatchenco and E.V. Titov, J. Molec. Struct., 47, 65-82 (1978).
5. G. Ganz and R.P.T. Tomkins, Nonaqueous Electrolytes Handbook, New York, London, Academic Press, vol. 1, 1972, p.890.
6. M.D. Monica and L. Senatore, J. Phys. Chem., 74, 205 (1970).
7. R.M. Fuoss and F. Accascina, Electrolytic Conductance, New York, Interscience, 1959, p. 263.
8. В.А. Дадали, Ю.С. Симаненко, С.А. Лапшин, Л.М. Литвиненко, В.И. Рыбаченко. - Ж. орган. химии, т. 12, № 7, 1483-1491, (1976).
9. Л.В. Курицын. Автореф. дисс.... докт. хим. наук. Иваново, 53 с., (1975).
10. I.M. Briody and D.P.N. Satchell, J. Chem. Soc., No 10, 3724-3728, (1957).
11. А.К. Шейнкман, С.И. Суминов, А.Н. Кост. - Успехи химии, т. 42, № 8, 1415-1450, (1973).
12. А.Ф. Пожарский. - В кн.: Очерки по химии азолов. Ростов-на-Дону: Изд-во РГУ, 1965, 23-50.
13. D. Jerchel and L. Jacob, Chem. Ber., No 91, 1266-1273 (1958)
14. С.В. Цукерман, Л.М. Литвиненко, А.П. Греков. - Укр. хим.

ж., т. 21, № 5, 341—343, (1955).

15. Е.Б. Еронько. — Электрохимия, т. 9, вып. 10, 1504, (1973).
16. Д. Добш. Электрохимические константы. Справочник для электрохимиков. — М.: Мир, 364 с., (1980).
17. Н.А. Измайллов. Электрохимия растворов. М., Химия, 1976, с. 127.
18. R.M. Fuoss, L. Onsager, and J.F. Scinner, J. Phys. Chem., 69, 2581-2594 (1965).

УДК 547:541.6:541.127

ЗАКОНОМЕРНОСТИ ПРОСТРАНСТВЕННОГО ВЛИЯНИЯ АЛКИЛЬНЫХ ГРУПП
В АЛИФАТИЧЕСКИХ АМИНАХ НА ИХ РЕАКЦИОННУЮ СПОСОБНОСТЬ

А.Ф.Попов, А.А.Матвеев, Ж.П.Пискунова

Институт физико-органической химии и углехимии АН УССР,
г.Донецк

Поступило 02 июля 1986 г.

На примере реакции Меншуткина показано, что стерический эффект алкильных заместителей в амине неаддитивен. Определен вклад неаддитивного пространственного влияния в зависимости от других факторов, сказывающихся на скорости реакции.

К настоящему времени накоплено значительное количество примеров, демонстрирующих как аддитивное, так и кумулятивное стерическое влияние нескольких заместителей. Так, в реакции присоединения брома к замещенным этиленам стерический эффект является аддитивным¹. Отмечалось, что такой же характер действия метильных групп наблюдается и в S_N2 реакциях у насыщенного атома углерода². В то же время, для щелочного гидролиза эфиров $R^1C(O)OR^2$ и $R^1C(O)SR^2$ показано³ неаддитивное стерическое влияние алкильных групп. Кроме того, среди многих уравнений, предложенных для оценки стерических постоянных E_s (E_s^0) радикала $R^1R^2R^3C\cdot$ (см., напр.⁴), лучшими являются те, которые учитывают неаддитивное действие заместителей R^1 , R^2 , R^3 .

Как сообщалось ранее⁵, нуклеофильность алифатических аминов значительно зависит от их пространственной структуры. В этой связи представляло интерес оценить, насколько разнится проявление стерического действия алкильных радикалов в аминах в реакциях с различными субстратами. С этой целью были определены (табл.1) константы скорости реакции Меншуткина (I)



где $R^1, R^2 = \text{Me, Et, } i\text{-Bu, } i\text{-Pr}$; $R^3 = \text{H, } R^4 = \text{H, Me}$; $R^3, R^4 = \text{Me}$.

При оценке влияния заместителей R^1 и R^2 можно считать, что изменение скорости реакции, обусловленное разницей в их индукционном действии, будет мало по сравнению с изменением, обусловленным влиянием стерического эффекта.

Таблица 1
Константы скорости ($k \cdot 10^3, \text{M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$) реакций аминов
 R^1R^2NH с алкилиодидами в ацетонитриле, 25°

R^1	R^2	MeI	EtI	$i\text{-Pr}$ а)
Me	Me	319 ± 14	$13,4 \pm 0,3$	$0,275 \pm 0,020$
Me	Et	182 ± 10	$5,34 \pm 0,30$	$0,0733 \pm 0,0035$
Me	$i\text{-Bu}$	107 ± 7	$2,38 \pm 0,20$	$0,0465 \pm 0,0025$
Me	$i\text{-Pr}$	$75,0 \pm 2,0$	$1,18 \pm 0,08$	$0,0135 \pm 0,0006$
Et	Et	$77,8 \pm 1,0$	$1,27 \pm 0,01$	$0,00914 \pm 0,00045$
Et	$i\text{-Bu}$	$36,0 \pm 0,5$	$0,694 \pm 0,040$	$0,00527 \pm 0,00042$
Et	$i\text{-Pr}$	$21,2 \pm 0,9$	$0,187 \pm 0,008$	$0,000744 \pm 0,000065$
$i\text{-Bu}$	$i\text{-Bu}$	$22,1 \pm 0,2$	$0,274 \pm 0,008$	$0,00231 \pm 0,00009$
$i\text{-Bu}$	$i\text{-Pr}$	$9,83 \pm 0,09$	$0,0862 \pm 0,0050$	$0,000498 \pm 0,000050$
$i\text{-Pr}$	$i\text{-Pr}$	$3,22 \pm 0,04$	$0,0187 \pm 0,0007$	$0,000020 \pm 0,000008$

а) Приведены константы скорости замещения, полученные путем вычитания из суммарной скорости реакции скорости элиминирования, определенной независимо⁶.

Это подтверждается тем, что реакционная способность аминов с одинаковым числом алкильных радикалов в основном

зависит от стерических постоянных E_N . Например, данные⁷ по реакционной способности вторичных аминов с EtI описываются уравнением:

$$\lg k = (-1,35 \pm 0,08) + (0,84 \pm 0,04)E_N; N=7; s_0=0,11; r=0,995 \quad (2)$$

Для характеристики заместителей R^1 и R^2 мы воспользовались внутренней операционной шкалой⁸, применение которой позволяет выявлять небольшие по величине перекрестные члены.

$$\lg k(R^1R^2) = \lg k(R_O^1R_O^2) + a_1E_{R^1} + a_2E_{R^2} + a_{12}E_{R^1}E_{R^2} \quad (3)$$

Здесь E_{R^1} и E_{R^2} — постоянные, характеризующие действие заместителей R^1 и R^2 в амине, вычислены по уравнениям (4) и (5), а $R_O^1 = R_O^2 = Me$.

$$E_{R^1} = \lg k(R^1, R_O^2) - \lg k(R_O^1, R_O^2) \quad (4)$$

$$E_{R^2} = \lg k(R_O^1, R^2) - \lg k(R_O^1, R_O^2) \quad (5)$$

Учитывая, что $a_1 = a_2 = 1$ по определению⁸, уравнение (3) можно преобразовать в (6)

$$\lg k(R^1R^2) = \lg k(R_O^1R_O^2) + a_{12}E_{R^1}E_{R^2} \quad (6)$$

Обработка данных табл.1 по этому уравнению показывает (табл.2), что, во-первых, значения $\lg k(R_O^1R_O^2)$ совпадают с экспериментально определенными значениями скорости взаимодействия Me_2NH с соответствующими субстратами. Во-вторых, значения $a_{12}(\text{нат.})$ незначительно отличаются от 1, что находится в соответствии с его математическим ожиданием. Наконец, для всех реакционных серий значим перекрестный член $a_{12}E_{R^1}E_{R^2}$, являющийся поправкой на неаддитивность действия*) заместителей R^1 и R^2 у атома азота в нуклеофиле. Отрицатель-

*) Аналогичная закономерность наблюдалась³ при обработке данных по гидролизу сложных эфиров вида $R^1C(O)OR^2$ и $R^1C(O)SR^2$.

Таблица 2

Параметры корреляции констант скоростей реакции алифатических аминов с алкилиодидами по уравнению (6)

Суб- страт	$\lg k (R^1_{O}, R^2_{O})$	a_1		a_{12}		S_0	R	N
		нат.	норм.	нат.	норм.			
MeI	$-0,51 \pm 0,07$	$0,99 \pm 0,16$	$0,63 \pm 0,10$	$-1,72 \pm 0,45$	$-0,39 \pm 0,10$	0,08	0,993	10
EtI	$-1,88 \pm 0,08$	$1,01 \pm 0,12$	$0,76 \pm 0,09$	$-0,56 \pm 0,20$	$-0,25 \pm 0,09$	0,10	0,994	10
i-PrI	$-3,58 \pm 0,07$	$0,98 \pm 0,08$	$0,62 \pm 0,05$	$-0,87 \pm 0,11$	$-0,40 \pm 0,05$	0,08	0,998	10

ное значение коэффициента a_{12} указывает на то, что, как отмечалось ранее³, пространственное взаимодействие заместителей R^1 и R^2 оказывает дестабилизирующее влияние на переходное состояние изучаемой реакции.

Кроме того, вклад фактора неаддитивности пространственного влияния заместителей в амин, оцениваемый по величине $a_{12}(\text{норм.})$ ⁹ и составляющий ~35%, практически не зависит от вида субстрата.

Интересно было обработать весь массив данных табл.1 по единому уравнению, одновременно описывающему влияние структуры субстрата и нуклеофила. С этой целью использовано уравнение (7):

$$\lg k = \lg k_0 + a_1(E_{R^1}' + E_{R^2}') + \psi'v' + a_{12}E_{R^1}'E_{R^2}' + a_{13}(E_{R^1}' + E_{R^2}')v' + a_{14}E_{R^1}'E_{R^2}'v', \quad (7)$$

где E_{R^1}' и E_{R^2}' — постоянные^{*}), характеризующие действие за-

^{*}) Поскольку $E_{R^1}(R^2)$ имеют определенные значения для каждой реакционной серии, то для обработки по (7) мы взяли средние значения этих постоянных и обозначили их $E_{R^1}'(R^2)$. В этом случае математическое ожидание коэффициента $a_1 \neq 1$.

местителей в амин; ψ' — стерические константы Чартон² для S_N2 реакций, характеризующие влияние заместителей в субстрате; a_1 , a_{12} , a_{13} , a_{14} и ψ' — коэффициенты чувствительности к соответствующим факторам.

Анализ коэффициентов уравнения (7) в нормированном масштабе (табл.3) показывает, что основное влияние на скорость процесса здесь оказывают объем заместителей в субстрате ($|\psi'| = 0,69$) и сумма объемов заместителей в нуклеофиле ($|a_1| = 0,22$). Член $a_{13}(E_R^1 + E_R^2)\psi'$, указывает на изменение положения переходного состояния на координате реакции⁶.

Таблица 3

Параметры корреляции констант скоростей реакции алифатических аминов с алкилиодидами по уравнению (7)

$\lg k(R_O^1 R_O^2)$	a_1		ψ'		a_{12}	
	нат.	норм.	нат.	норм.	нат.	норм.
-0,44	0,70 \pm $\pm 0,16$	0,22 \pm $\pm 0,05$	-4,43 \pm $\pm 0,24$	-0,69 \pm $\pm 0,04$	-0,53 \pm $\pm 0,29$	-0,09 \pm $\pm 0,05$

$\lg k(R_O^1 R_O^2)$	a_{13}		a_{14}		S_0	R	N
	нат.	норм.	нат.	норм.			
-0,44	0,83 \pm $\pm 0,36$	0,15 \pm $\pm 0,06$	-1,12 \pm $\pm 0,64$	-0,10 \pm $\pm 0,06$	0,14	0,998	30

Коэффициенты a_1 , ψ' , a_{13} значимы на уровне 0,95 по t -критерию; коэффициенты a_{12} , a_{14} значимы на уровне 0,90 по t -критерию.

Перекрестный член $a_{12}E_R^1 E_R^2$ ($|a_{12}| = 0,09$), характеризующий неаддитивность действия заместителей в амин, вносит значительно меньший вклад, чем при корреляционной обработке реакционных серий с фиксированным субстратом, хотя отношение $a_1 \text{ норм.} / a_{12} \text{ норм.} = 2,45$ примерно равно таковому (1,92) для серий, в которых варьируемым параметром является только

структура амина. Вклад тройного перекрестного члена $a_{14}E'R^1E'R^2U'$ также невелик ($|a_{14}| = 0,10$).

Таким образом, при малых объемах R^1 и R^2 , а также при значительном влиянии на скорость реакции структуры субстрата (или других факторов) неаддитивность стерического действия заместителей в амине маскируется действием этих факторов, однако для характеристики реакционной способности стерически затрудненных аминов эта неаддитивность может иметь определенное значение.

Экспериментальная часть

Диметиламин, диэтиламин, диизобутиламин, диизопропиламин, алкилиодиды очищали по известным методикам. Метилэтиламин и метилизобутиламин были получены путем гидролиза соответствующих N,N'-диалкилсульфамидов^{10,11}. Метилизопропиламин, этилизопропиламин, этилизобутиламин и изобутилизопропиламин были получены восстановлением соответствующих азометинов алмогидридом лития¹². Физико-химические характеристики полученных веществ соответствовали литературным. Кинетические измерения проводили, как описано ранее^{6,7}.

Литература

1. Пальм В.А., Основы количественной теории органических реакций. Л.: Химия, 1977, с.235.
2. Charton M., J.Amer.Chem.Soc., 97, 3694 (1975).
3. Истомин Б.И., Финкельштейн Б.Л., Елисеева Г.Д., Реакц. способн. орган. соедин., 16, 450 (1979).
4. Истомин Б.И., Баранский В.А., Реакц. способн. орган. соедин., 11, 963 (1975).
5. Богатков С.В., Попов А.Ф., Литвиненко Л.М., Реакц. способн. орган. соедин., 6, 1011 (1969).
6. Попов А.Ф., Матвеев А.А., Пискунова Ж.П., Пальм В.А., Реакц. способн. орган. соедин., 22, 154 (1985).
7. Матвеев А.А., Пискунова Ж.П., Пальм В.А., Попов А.Ф., Реакц. способн. орган. соедин., 22, 110 (1985).
8. Истомин Б.И., Баранский В.А., Реакц. способн. орган. соедин., 15, 215 (1978).

9. Ферстер Э., Рёнц Б., Методы корреляционного и регрессионного анализа, М.: Финансы и статистика, 1983, с.86.
10. Органикум, М.: Мир, 1979, т.1, с.274.
11. Вейганд-Хильгетаг, Методы эксперимента в органической химии, М.: Химия, 1969, с.421-422.
12. Хайош А., Комплексные гидриды в органической химии, Л.: Химия, 1971, с.224-225.

УДК 547:541.6:541.127

ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА СКОРОСТЬ ОБРАЗОВАНИЯ АЛКЕНОВ ПРИ
ВЗАИМОДЕЙСТВИИ АЛКИЛИДИДОВ С АЛИФАТИЧЕСКИМИ АМИНАМИ

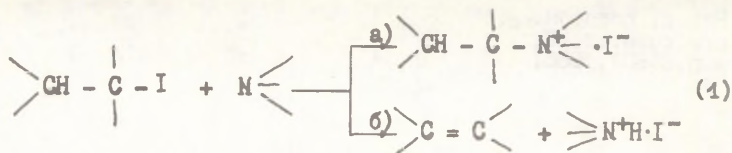
А.Ф.Попов, А.А.Матвеев, Ж.П.Пискунова

Институт физико-органической химии и углехимии АН УССР
г.Донецк

Поступило 02 июля 1986 г.

На основании изучения кинетики взаимодействия алкилидидов с алифатическими аминами (ацетонитрил, 25°) показано, что реакция протекает по двум маршрутам -- замещения и элиминирования. Проанализированы зависимость скорости реакции элиминирования и соотношение скоростей отщепления и замещения от строения реагентов. Найдено, что скорость элиминирования значительно меньше зависит от строения нуклеофила, чем скорость замещения.

Известно, что реакции нуклеофильного замещения и отщепления во многих случаях могут протекать параллельно (см., напр.¹). Реакция Меншуткина в этом смысле не является исключением. В частности, на образование изобутена из трет.-бутилиодида и, возможно, пропена из изопропилиодида в присутствии аминов указывал еще Меншуткин². Поэтому при изучении взаимодействия аминов с алкилидидами (1) в настоящей работе определены две цели: исследование замещения в "чис-



том" виде*) и определение факторов, влияющих на соотношение маршрутов замещения (Iа)) и элиминирования (Iб)).

Полученные данные (табл. 1 и 2) указывают прежде всего на ярковыраженную зависимость маршрута элиминирования (% E) от структуры алкилиодида. Так, при переходе от EtI к i-PrI

Таблица 1

Константы скорости ($k \cdot 10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$) взаимодействия алкилиодидов с Et_3N в ацетонитриле (25°) по маршруту замещения (S) и элиминирования (E)

	EtI	n-PrI	i-AmI	i-BuI	i-PrI	s-BuI
k_S	$228 \pm 5^{\text{а}}$	$38,2 \pm 0,6^{\text{а}}$	$6,85 \pm 0,30$	$3,19 \pm 0,17^{\text{б}}$	$0,26 \pm 0,03^{\text{б}}$	-
k_E	$0,21 \pm 0,02$	$0,86 \pm 0,08$	$0,29 \pm 0,03$	$1,65 \pm 0,08$	$1,18 \pm 0,04$	$3,05 \pm 0,10$
%E	0,09	2,2	4,0	34	82	100

а) Из работы³. б) Из работы⁴.

этот вклад увеличивается почти на 3 порядка, а в случае s-BuI (табл.2) маршрут замещения для некоторых аминов вообще не удалось обнаружить. Это происходит в основном из-за уменьшения скорости замещения в ряду сравниваемых субстратов при увеличении степени экранирования реакционного цент-

*) О влиянии структуры реагентов на скорость реакции Мен-путькина сообщалось ранее^{3,4}.

Таблица 2

Константы скорости ($k_E \cdot 10^6, M^{-1} \cdot c^{-1}$) и вклад маршрута элиминирования ($\%E$) в общую скорость реакции алкилидидов с аминами

	i-PrI		i-BuI		s-BuI	
	k_E	$\%E$	k_E	$\%E$	k_E	$\%E$
MeNH ₂	0,567±0,040	0,93	2,13±0,20	4,7	4,86±0,16	II
i-PrNH ₂	0,267±0,10	2,9	1,06±0,05	10	-	
t-BuNH ₂	0,220±0,009	6,9	0,670±0,030	14	2,13±0,16	63
Пиперидин	3,26±0,06	1,4	17,6±0,9	7,7	28,2±1,5	24
Et ₂ NH	1,38±0,05	13	5,26±0,30	24	10,9±0,30	94
(i-Bu) ₂ NH	0,334±0,012	13	0,865±0,027	16	-	
(i-Pr) ₂ NH	0,217±0,008	92	0,160±0,008	40	-	
Me ₃ N	4,50±0,35	4,0	14,3±1,0	6,4	21,9±1,5	67
Me ₂ BuN	1,96±0,08	12	9,79±0,40	17	10,7±0,7	100
Me ₂ BzN	0,350±0,012	8,1	0,969±0,040	8,9	-	
MeEt ₂ N	1,90±0,11	41	5,55±0,40	25	-	
Et ₃ N	1,18±0,04	82	1,65±0,08	34	3,05±0,10	100

ра в них.

При рассмотрении влияния структуры субстрата на скорость реакции дегидроиодирования*) можно отметить, что введение алкильных радикалов в его молекулу несколько увеличивает скорость реакции. Так, введение метильной группы в β-положение (ср. n-PrI и EtI, i-BuI и n-PrI, s-BuI и i-PrI в табл.1) увеличивает скорость процесса в 2-4 раза, введение же ее в α-положение — в 4-5 раз (ср. i-PrI и EtI, s-BuI и n-PrI).

*) Приходится ограничиться лишь качественным анализом, поскольку из-за недостаточно большого изменения скоростей и малого набора субстратов не удастся провести надежный количественный анализ данных по приведенным реакционным сериям.

Ускоряющее действие донорных заместителей в реакции элиминирования согласно модели Торнтон-О'Феррала (см., напр.⁵) указывает на большую степень разрыва связи C-I по сравнению с C-H в переходном состоянии, которое, таким образом, является "рыхлым". Интересно отметить, что переходное состояние реакции замещения в исследованных алкилиодидах также является "рыхлым"⁴.

Что касается величины наблюдаемых эффектов, то следует учесть, что введение алкильных групп также увеличивает и пространственное экранирование реакционного центра, то есть индукционный и стерический эффекты действуют в противоположных направлениях. Иными словами, ускорение при замене водорода на алкил в α -положении по сравнению с заменой в β -положении было бы более значительным при отсутствии стерического эффекта. Взаимодействием вышеуказанных эффектов можно, в частности, объяснить и пониженную реакционную способность $i\text{-AmI}$ по сравнению с $n\text{-PrI}$. Замедление реакции, связанное здесь с увеличением стерического экранирования реакционного центра при введении β -изопропильной группы превышает ускорение, обусловленное увеличением электронодонорных свойств.

Влияние структуры нуклеофила на соотношение скоростей маршрутов и на скорость реакции элиминирования было исследовано более детально (табл.2). В случае $i\text{-BuI}$ вклад маршрута отщепления изменяется при варьировании структуры амина менее чем в 10 раз и не превышает 40% для $i\text{-Pr}_2\text{NH}$. Выход алкена в случае $i\text{-PrI}$ изменяется более значительно — в 100 раз и для $i\text{-Pr}_2\text{NH}$ достигает 92%, а более стерически затрудненный субстрат — $s\text{-BuI}$, даже с такими сравнительно слабо затрудненными аминами, как Et_2NH и Me_2BuN , практически полностью реагирует по маршруту элиминирования.

Константы скорости замещения и отщепления для $i\text{-BuI}$ и $i\text{-PrI}$ с рядом алифатических аминов (табл.2) были обработаны по уравнению (2), где $\Sigma\sigma^*$ — сумма индукционных постоянных

$$\lg k = \lg k_0 + \rho^* \Sigma\sigma^* + \delta E_N \quad (2)$$

заместителей при атоме азота в амине; E_N — стерический эффект всей молекулы амина; ρ^* , δ — коэффициенты чувствитель-

Таблица 3

Параметры корреляции констант скорости замещения и элиминирования i -BuI и i -PrI с алифатическими аминами, ацетонитрил, 25°

Субстрат	Тип реакции, N (число точек)	$\lg k_0$	ρ^*		δ		$S_{\text{общ.}}$	R
			нат.	норм. а)	нат.	норм. а)		
i -BuI	Замещение N = 12	$-2,10 \pm 0,12$	$-2,27 \pm 0,13$	$-1,10 \pm 0,06$	$1,08 \pm 0,04$	$1,52 \pm 0,06$	0,112	0,993
	Элиминирование N = 12	$-3,58 \pm 0,22$	$-2,09 \pm 0,24$	$-1,35 \pm 0,16$	$0,75 \pm 0,08$	$1,42 \pm 0,15$	0,205	0,955 ^{б)}
i -PrI	Замещение N = 12	$-1,88 \pm 0,19$	$-2,16 \pm 0,20$	$-0,77 \pm 0,07$	$1,39 \pm 0,07$	$1,44 \pm 0,07$	0,173	0,990
	Элиминирование N = 12	$-4,67 \pm 0,22$	$-1,68 \pm 0,23$	$-1,45 \pm 0,20$	$0,49 \pm 0,08$	$1,21 \pm 0,20$	0,201	0,925 ^{б)}

а) Об использовании нормированных коэффициентов для сравнения вкладов соответствующих эффектов см. ⁶.

б) Низкие значения коэффициента корреляции, получаемые при обработке данных по скоростям элиминирования связаны со сравнительно малым диапазоном изменения последних.

ности к соответствующим факторам⁷.

Анализ полученных параметров корреляции (табл.3) показывает, что для реакции элиминирования чувствительность к структуре амина меньше, чем для замещения. Особенно ярко это проявляется в случае $i\text{-PrI}$ (ср. коэффициенты $\rho_{\text{нат.}}$ и $\delta_{\text{нат.}}$ для реакций замещения и элиминирования). Более существенное уменьшение чувствительности к пространственному строению амина при переходе от маршрута замещения к маршруту элиминирования скорее всего связано с уменьшением напряженности переходного состояния для последней реакции.

Это приводит к тому, что в отличие от реакции замещения, где преобладающим был стерический эффект, для реакции элиминирования более важную роль начинает играть индукционный эффект заместителей в амине (ср. соответствующие коэффициенты $\rho_{\text{норм.}}$ и $\delta_{\text{норм.}}$).

Экспериментальная часть

Ацетонитрил, амины и алкилиодиды очищали по известным методикам. Со стерически затрудненными аминами измерения проводили методом начальных скоростей, а с реакционноспособными (Me_3N , пиперидин) реакцию доводили до конца и определяли соотношение концентраций алкена и четвертичной аммониевой соли. Суммарную константу скорости двух маршрутов определяли при помощи потенциометрического аргентометрического титрования образующегося иодид-иона. Концентрацию алкена определяли, как описано ранее⁴.

Литература

1. А.С.Днепровский, Т.И.Темникова, Теоретические основы органической химии, Л., Химия, 1979, с.338.
2. N.Menschutkin, Z.physik.Chem., 5, 589 (1890).
3. А.А.Матвеев, Ж.П.Пискунова, В.А.Пальм, А.Ф.Попов, Реакц. способн. орган. соедин., 22, 110 (1985).
4. А.Ф.Попов, А.А.Матвеев, Ж.П.Пискунова, В.А.Пальм, Реакц. способн. орган. соедин., 22, 154 (1985).
5. А.С.Днепровский, в сб. "Реакционная способность и меха-

низмы реакций органических соединений", вып.2, Л., Ш изд. ЛГУ, 1974.

6. Э.Ферстер, Б.Ренц, Методы корреляционного и регрессионного анализа, М., "Финансы и статистика", 1983, с.86.
7. С.В.Богатков, А.Ф.Попов, Л.М.Литвиненко, Реакц.способн. орган.соедин., 6, IOII (1969).

УДК 541.127

МЕХАНИЗМ РЕАКЦИИ ДЕГИДРОГАЛОГЕНИРОВАНИЯ АЛКИЛГАЛОГЕНИДОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ АЛИФАТИЧЕСКИХ АМИНОВ

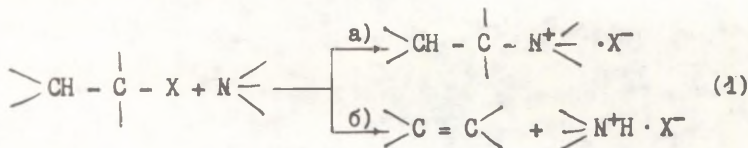
А.А.Матвеев, Ж.П.Пискунова, А.Ф.Попов

Институт физико-органической химии и углеродных соединений
г.Донецк

Поступило 02 июля 1986 г.

На основании изучения влияния на скорость реакции дегидрогалогенирования алкилгалогенидов концентрации и структуры нуклеофила, природы уходящей группы и дейтериевого кинетического изотопного эффекта сделан вывод о том, что реакция протекает по механизму E2 отщепления.

Ранее было показано¹, что взаимодействие алкилиодидов и алифатических аминов протекает по двум маршрутам — замещения а) и элиминирования б) (1):



Механизму первого маршрута — реакции Меншуткина — в литературе уделено много внимания, а данных по исследованию второго маршрута — меньше. Этим вызвана постановка настоящей работы — исследование механизма реакции элиминирования.

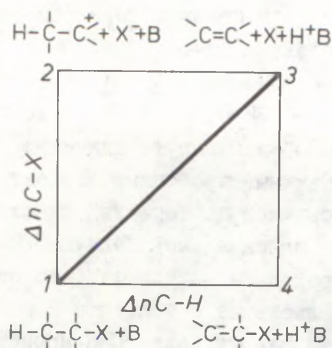


Схема 1

ский изотопный эффект в алкилгалогениде.

Скорость реакции дегидрогалогенирования различных субстратов (EtI, n-PrI, i-AmI, i-BuI, i-PrI, s-BuI)¹, i-BuBr, i-PrBr (табл.1) подчиняется уравнению второго порядка (первого по каждому из реагентов) и зависит от структуры амина¹, что характерно для E2 и E1cB механизмов элиминирования (область 1-3-4 на схеме 1). Изменение природы уходящей группы X (переход от I- к Br-производным) вызывает значительное уменьшение константы скорости взаимодействия (табл.1). Это

Таблица 1

Константы скорости дегидрогалогенирования ($k \cdot 10^7$, $M^{-1} \cdot c^{-1}$) изобутил- и изопропилгалогенидов при взаимодействии с алифатическими аминами в ацетонитриле, 25°

	i-BuI ¹	i-BuBr	k_I/k_{Br}	i-PrI ¹	i-PrBr	k_I/k_{Br}
Me ₃ N	143±10	4,45±0,40	32	45,0±3,5	1,10±0,09	41
MeEt ₂ N	55,5±4,0	1,38±0,12	40	19,0±1,1	0,79±0,07	24

Указывает на то, что разрыв связи C-X происходит в скорость-определяющей стадии, т.е. порядки этой связи в переходном и исходном состояниях существенно различаются.

Сопоставление реакционной способности $i\text{-PrI}$ ($k = (3,26 \pm 0,06) \cdot 10^{-6} \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$) и $i\text{-Pr}_{\text{D}_7}\text{I}$ ($k = (4,72 \pm 0,08) \cdot 10^{-7} \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$) с пиперидином в ацетонитриле при 25° в маршруте элиминирования указывает на существенный первичный изотопный эффект ($k_{\text{H}}/k_{\text{D}} = 6,9 \pm 0,2$). Поскольку первичный дейтериевый кинетический изотопный эффект достигает максимальной величины 8–10 (редко выше) при симметричном переходном состоянии³, то полученное значение $k_{\text{H}}/k_{\text{D}}$ свидетельствует о том, что в переходном состоянии изучаемой реакции разрыв связи C-H происходит примерно на 50%.

Полученные данные позволяют сделать выбор между механизмами E2 и E1cB. Механизм E1cB (путь 1–4–3 на схеме 1) возможен в двух предельных вариантах — неравновесном и предравновесном (см., напр.⁴). В первом случае происходит медленный отрыв протона от субстрата под действием основания и быстрый распад образовавшегося карбаниона. При этом чувствительность к природе уходящей группы невелика, что противоречит полученным данным (табл.1). Во втором случае при быстром обратимом отщеплении протона и медленном разрыве связи C-X должен наблюдаться малый ($\leq 1,5$) термодинамический изотопный эффект³, что также не согласуется с экспериментом.

Учитывая все вышесказанное, можно сделать вывод, что реакция дегидрогалогенирования исследованных алкилгалогенидов при взаимодействии с алифатическими аминами происходит по механизму синхронного (E2) отщепления.

Экспериментальная часть

Алкилгалогениды и алифатические амины очищали по известным методикам. Изопропилиодид D_7 был получен из изопропилового спирта D_8 реакцией с иодом и трифенилфосфитом⁵. Константы скорости маршрута элиминирования определяли, как описано ранее¹.

Литература

1. А.Ф.Попов, А.А.Матвеев, Ж.П.Пискунова, этот сборник, с. 309.
2. А.С.Днепровский, в сб. "Реакционная способность и механизмы реакций органических соединений", вып.2, Л., изд.ЛГУ, 1974.
3. Л.М.Литвиненко, Н.М.Олейник, Органические катализаторы и гомогенный катализ. Киев, "Наукова думка", 1981, гл.2.
4. А.С.Днепровский, Т.И.Темникова, Теоретические основы органической химии, Л., Химия, 1979, гл. XII.
5. Вейганд-Хильгетаг, Методы эксперимента в органической химии, М., Химия, 1971, с.216.

УДК 547.233:541.127:541.6

ЭЛЕКТРОННОЕ ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРЫ МОРФОЛИНА НА ЕГО НУКЛЕОФИЛЬНОСТЬ

И.Ф.Переписчика, А.Ф.Попов, Л.И.Костенко, Ж.П.Пискуноза

Институт физико-органической химии и углехимии АН УССР,
г.Донецк

Поступило 12 августа 1986 г.

Корреляционные зависимости нуклеофильной реакционной способности алифатических аминов (раздельно учитывающие индукционный ($\Sigma\sigma^*$) и пространственный (E_M) эффекты) в различных реакционных сериях использованы для количественной оценки эффективного индукционного влияния структуры морфолина на его активность. Найденная величина $\Sigma\sigma_M^* = 0,62 \pm 0,03$ существенно отличается от вычисленного значения, получаемого суммированием σ^* для заместителей у атома азота (1,16), вследствие неаддитивности индукционного влияния заместителей из-за образования внутримолекулярной водородной связи между атомом водорода аминогруппы и атомом кислорода.

Известно (см., напр.¹), что нуклеофильная реакционная способность алифатических аминов обусловлена, в основном, двумя факторами — индукционным влиянием заместителей у атома азота и пространственной доступностью этого атома. Для количественного учета этих эффектов² хорошо зарекомендовало себя двухпараметровое уравнение:

$$\lg k = \lg k_0 + \rho^* \Sigma \sigma^* + \delta E_N \quad (1)$$

Здесь $\Sigma\sigma^*$ характеризует индукционное влияние радикалов, присоединенных к атому азота, E_N — стерическую доступность

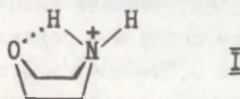
этого атома, а ρ^* и δ — чувствительность реакционной серии к указанным эффектам.

Однако нуклеофильная реакционная способность морфоллина (при использовании для него значений*) $\sum \sigma^* = 1,16$ и $E_N = -0,79$) не описывается уравнением (1). Обычно морфоллин реагирует в 20–200 раз быстрее, чем можно ожидать из корреляционной зависимости, построенной для ряда других алифатических аминов с использованием указанных постоянных^{4–7}. Предполагается, что этот эффект обусловлен либо образованием внутримолекулярной водородной связи между атомом кислорода и атомом водорода группы N–H в переходном состоянии, когда на атоме азота возникает положительный заряд², либо дополнительными электронными эффектами⁴.

Следует отметить, что основность морфолина в нитрометане не подчиняется⁸ уравнению Тафта (2), что также связывае-

$$\rho K_a = \rho K_a^0 + \rho^* \sum \sigma^* \quad (2)$$

тся^{8,9} с проявлением эффекта внутримолекулярной сольватации катиона атомом кислорода по типу I:



I

При строгем подходе этот эффект может быть учтен модификацией уравнения (1) путем введения третьего параметра, характеризующего образование внутримолекулярной водородной связи. Однако, возможен и другой подход — рассматривать образование внутримолекулярной водородной связи как фактор, изменяющий индукционное влияние заместителей у атома азота. Такой подход вполне допустим, поскольку при определении индукционного влияния заместителей у атома азота ($\sum \sigma^*$) в аминах предполагается, что влияние всех заместителей аддитивно.

) Величина $\sum \sigma^$ вычислена суммированием значений σ^* для радикалов N– и $O < \begin{smallmatrix} \text{CH}_2\text{CH}_2- \\ \text{CH}_2\text{CH}_2- \end{smallmatrix}$, равных +0,49 и +0,67, соответственно³. Величина E_N принимается равной таковой для пиперидина².

В случае же морфолина аддитивность этого влияния нарушается образованием указанной Н-связи. Поэтому определение величины индукционного влияния заместителей в морфолине обычным суммированием значений σ^* для Н (+0,49) и радикала $O < \begin{smallmatrix} \text{CH}_2\text{CH}_2- \\ \text{CH}_2\text{CH}_2- \end{smallmatrix}$ (+0,67) не вполне корректно. Изменение же индукционного эффекта заместителей у атома азота за счет образования внутримолекулярной Н-связи по сути аналогично изменению индукционного эффекта заместителя при переносе протона (например, при переходе от -NR_2 к $^+\text{NHR}_2$ и от -OH к -O^-).

Для количественной оценки такого эффективного индукционного эффекта заместителей у атома азота в морфолине ($\Sigma\sigma_M^*$) были проанализированы различные данные^{4-7, 10-17} по реакционной способности алифатических аминов, в том числе и морфолина (см. таблицу).

На основании полученных данных ($\lg k_o$, ρ^* и δ) и значений констант скорости соответствующих реакций с участием морфолина, с учетом значения $E_M = -0,79$ для него, по уравнению (1) были вычислены значения $\Sigma\sigma_M^*$ для различных реакционных серий. Оказалось, что эти значения (см. таблицу) хорошо совпадают между собой и в подавляющем большинстве случаев лежат в области 0,59–0,64^{*}). Отсюда следует, что, если уравнение (1) модифицировать введением третьего параметра, то чувствительность к нему различных реакционных серий будет примерно одинаковой. Постоянство вычисленных значений позволяет рекомендовать для морфолина значение $\Sigma\sigma_M^* = 0,62 \pm 0,03$ (вычислено как среднее арифметическое для серий №1а–5а, 7–14).

Следует отметить, что хотя основность морфолина в нитрометане и не подчиняется уравнению Тафта (2), но вычислен-

) Для реакции с 2,4-динитрохлорбензолом (серия № 6) значение $\Sigma\sigma_M^$ несколько ниже — 0,49. Однако включение в корреляционную зависимость точки для морфолина с $\Sigma\sigma_M^* = 0,62$ практически не приводит к изменению параметров корреляции и точка для морфолина отклоняется от зависимости не более, чем точки для других аминов (бензиламин, трет.-бутиламин, изопропиламин, диметиламин) в этой серии.

Таблица

Параметры корреляции реакционной способности алифатических аминов по уравнению (I)
и вычисленные значения $\sum \sigma^*$ для морфолина ($\sum \sigma_M^*$)

№ п/п	Реагент а)	Условия	$\lg k_o$	ρ^*	δ	s	R	N	$\sum \sigma_M^*$
1	(n-MeOPh) ₃ C ⁺	25°, H ₂ O ¹⁰	6,91± ±0,32	-1,60± ±0,33	2,12± ±0,19	0,30	0,951	16	0,66±0,14 ^{б)}
1а	Тот же в)	"	7,23± ±0,24	-2,06± ±0,27	2,22± ±0,15	0,21	0,979	14	0,63±0,08
2	(PhCH=CHCO) ₂ O	25°, CH ₃ CN ¹¹	5,63± ±0,38	-3,27± ±0,35	1,71± ±0,14	0,27	0,955	17	0,64±0,07
2а	Тот же г)	"	5,29± ±0,20	-2,97± ±0,19	1,53± ±0,08	0,14	0,984	16	0,64±0,04
3	CH ₂ -CH ₂ ^{д)} \ / O	20°, H ₂ O ¹²	-2,06± ±0,18	-0,98± ±0,19	0,58± ±0,09	0,15	0,945	8	0,57±0,11
3а	Тот же е)	"	-1,77± ±0,18	-1,22± ±0,17	0,69± ±0,08	0,11	0,974	7	0,62±0,09
4	CH ₃ -CH-CH ₂ ^{д)} \ / O	"	-1,97± ±0,16	-0,89± ±0,17	0,51± ±0,08	0,14	0,948	8	0,64±0,12
4а	Тот же е)	"	-1,69± ±0,15	-1,11± ±0,14	0,62± ±0,07	0,09	0,979	7	0,69±0,09
5	p-NO ₂ PhPO ₂ ²⁻ д)	39°, H ₂ O ¹³	-5,44± ±0,36	-0,79± ±0,43	0,62± ±0,14	0,18	0,972	6	0,75±0,41
5а	Тот же ж)	"	-5,21± ±0,23	-1,23± ±0,30	0,71± ±0,09	0,10	0,992	5	0,61±0,15

Таблица (продолжение)

№ п/п	Реагент а)	Условия	$\lg k_0$	ρ^*	δ	s	R	N	$\sum \sigma_M^*$
6	2,4-(NO ₂) ₂ PhCl	25°, EtOH 14	0,52± ±0,33	-3,25± ±0,34	1,67± ±0,12	0,36	0,962	19	0,49±0,05
6a	Тот же з)	" "	0,55± ±0,24	-3,36± ±0,27	1,63± ±0,09	0,24	0,981	17	0,49±0,04
7	БННК	70°, H ₂ O 15	0,20± ±0,20	-2,65± ±0,17	1,57± ±0,09	0,09	0,999	4	0,60±0,04
8	БМДЦ д)	40°, C ₆ H ₆ 16	-1,47± ±0,46	-3,48± ±0,55	0,68± ±0,14	0,28	0,976	5	0,57±0,09
9	PhCOCH ₂ Br и)	25°, C ₆ H ₆ 7	0,82± ±0,20	-3,24± ±0,20	1,38± ±0,07	0,20	0,979	19	0,60±0,04
10	CH ₂ =CHCN и)	25°, H ₂ O 4	1,67± ±0,29	-3,94± ±0,31	0,84± ±0,14	0,26	0,963	15	0,59±0,05
10a	Тот же и)	25°, H ₂ O 6	2,86± ±0,49	-4,91± ±0,58	1,46± ±0,15	0,32	0,965	9	0,61±0,07
11	n-MeOPhCOCH=CH ₂ и)	25°, 10% EtOH- H ₂ O 4	3,58± ±0,33	-3,40± ±0,33	0,63± ±0,13	0,18	0,973	11	0,64±0,06
12	n-MePhSO ₂ CH=CH ₂ и)	25°, EtOH 4 и)	2,07± ±0,28	-4,01± ±0,29	1,36± ±0,12	0,18	0,979	11	0,62±0,04
13	H ₂ NCOCH=CH ₂ и)	25°, H ₂ O 5	0,37± ±0,31	-3,29± ±0,33	0,88± ±0,15	0,27	0,951	13	0,62±0,06
14	PhNHCOCH=CH ₂ и)	" "	0,52± ±0,31	-3,22± ±0,32	0,84± ±0,15	0,26	0,955	13	0,63±0,06
15	PhOH л)	25°, CCl ₄ 18	2,53± ±0,10	-0,60± ±0,07	0,27± ±0,03	0,11	0,937	16	0,97±0,11

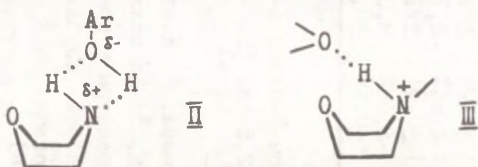
Таблица (продолжение)

№ п/п	Реагент ^{а)}	Условия	$\lg k_0$	ρ^*	δ	s	R	N	$\sum \sigma_M^*$
I5a	PhOH ^{м)}	25°, CCl ₄ ¹⁸	2,59± ±0,05	-0,64± ±0,04	0,27± ±0,02	0,06	0,985	I3	1,01±0,06
I6	ДНФ ^{л)}	25°, C ₆ H ₆ ¹⁹	4,84± ±0,31	-2,73± ±0,35	0,65± ±0,12	0,31	0,915	I6	0,91±0,12
I6a	Тот же ^{н)}	"-"	5,05± ±0,19	-3,04± ±0,21	0,73± ±0,07	0,17	0,980	I3	0,86±0,06

а) Принятые обозначения: БННК — 8-бром-5-нитро-1-нафтольная кислота, БМДЦ — 4-бром-4-метил-2,6-ди-трет.-бутилциклогексаниен-2,5-он, ДНФ — 2,4-динитрофенол. б) Погрешность находили из соотношения $\frac{\Delta \sum \sigma_M^*}{\sum \sigma_M^*} = \frac{\Delta \rho^*}{\rho^*}$. в) За исключением бензиламина и циклогексил-амина. г) За исключением трет.-бутиламина. д) Константы скорости приведены к размерности $M^{-1} \cdot c^{-1}$. е) За исключением пирролидина. ж) За исключением метиламина. з) За исключением трет.-бутиламина и бензиламина. и) Параметры корреляции взяты из приведенных литературных источников. к) Корреляционная обработка опубликованных в литературе¹⁷ констант скорости. л) Рассматриваются константы ассоциации K_{acc} (M^{-1}). м) За исключением изобутиламина, три-н-бутиламина, аллиламина. н) За исключением диазабициклооктана, N,N-диметиламина, диэтиламина.

ное по уравнению^{8,9} для вторичных аминов ($pK_a = 19,36 - (4,29 \pm 0,15) \Sigma \sigma^*$) значение $\Sigma \sigma_M^* = 0,83 \pm 0,10$ несколько больше, чем для реакционных серий №№ 1-14. Еще большие значения $\Sigma \sigma_M^*$ ($0,86-1,01$) получены из зависимостей типа (I) для констант ассоциации аминов с фенолом в CCl_4 ¹⁸ и 2,4-динитрофенолом в бензоле¹⁹ (серии №№ 15 и 16). Это может свидетельствовать об ослаблении внутримолекулярной связи в этих случаях, поскольку заряд на атоме азота меньше +1. Таким образом, наблюдается симбатность между зарядами на атоме азота и степенью образования Н-связи по типу I. Кроме того, в случае констант ассоциации с фенолами (серии №№ 15 и 16) Н-связь в I может быть ослаблена (или разрушена) водородной связью с кислородным атомом фенола по типу II.

На образование внутримолекулярной водородной связи типа I может оказывать влияние также и сольватация водородного атома связи N-H растворителем (III), что особенно должно проявляться в протоактивных средах (вода, спирты). В этом слу-



чае эффективное значение $\Sigma \sigma_M^*$ будет зависеть от прочности каждого типа (I-III) водородной связи. Так, в воде, где связь типа I практически отсутствует, основность морфолина подчиняется уравнению Тафта (2)^{8,20}. В то же время, как видно из данных таблицы (серии № 1-14), не наблюдается зависимости между свойствами среды и нуклеофильной реакционной способностью морфолина. Это может свидетельствовать о том, что роль связи типа III в этих случаях не существенна. Возможно, это связано с тем, что для кислотно-основных взаимодействий рассматриваются термодинамические параметры реакции (K_a , $K_{нв}$), величина которых зависит от разности в энергиях исходного и конечного состояния. В случае же нуклеофильных реакций аминов мы имеем дело с кинетическим параметром (k), отражающим разность в энергиях исходного и переходного состояния, где

внутримолекулярная сольватация переходного состояния превалирует над межмолекулярной.

Эти примеры отчетливо иллюстрируют зависимость эффективности электронного влияния структуры морфолина на его основность (нуклеофильность) от характера кислоты (электрофила) и свойств среды. В этом плане необходимо отметить, что к часто используемому в литературе^{17,21-24} сравнению реакционной способности пиперидина и морфолина как аминов с одинаковой пространственной доступностью атома азота, но сильно различающихся по основности (в воде почти на 3 порядка), следует относиться с осторожностью, поскольку выводы, сделанные лишь на таком сравнении, без учета возможности образования внутримолекулярной водородной связи типа I, могут оказаться некорректными.

Литература

1. А.А.Матвеев, Ж.П.Пискунова, В.А.Пальм, А.Ф.Попов. Реакц. способн. орган. соедин., 22, 110 (1985).
2. С.В.Богатков, А.Ф.Попов, Л.М.Литвиненко. Реакц. способн. орган. соедин., 6, 1011 (1969).
3. Справочник химика, т. III, М.-Л., "Химия", 1964, с.954-957.
4. Г.И.Денис, Л.-Д.Д.Кунскайте, А.К.Вайткевичус, А.В.Климавичус. Реакц. способн. орган. соедин., 12, 275 (1975).
5. М.В.Данилевичюте, Г.И.Денис, О.К.Адоменене. Реакц. способн. орган. соедин., 16, 439 (1979).
6. Г.И.Денис, Л.-Д.Д.Кунскайте, А.К.Вайткевичус. ДАН СССР, 216, 1300 (1974).
7. Л.М.Литвиненко, А.Ф.Попов, Ж.П.Гельбина. ДАН СССР, 203, 343 (1972).
8. Б.А.Королев, М.А.Мальцева, А.Н.Тарасов, В.А.Васильев. ЖОХ, 44, № 4, 864 (1974).
9. А.Ф.Попов, Ж.П.Пискунова. - В сб.: "Проблемы физико-органической химии". Киев, "Наукова думка", 1978, с.3.
10. С.А.Bunton, S.K.Huang. J.Am.Chem.Soc., 96, 515 (1974).
11. W.Hong, K.Connor. J.Pharm.Sci., 57, 1789 (1968).
12. P.K.Sundaram, M.M.Sharma. Bull.Chem.Soc.Japan, 42, 3141

(1969).

13. A.J.Kirby, W.P.Jencks. J.Am.Chem.Soc., 87, 3209 (1965).
14. H.K.Hall, jr. J.Org.Chem., 29, 3539 (1964).
15. В.Н.Лисицын, В.А.Шульчишин. Реакц.способн.орган.соедин., 8, 627 (1971).
16. А.А.Володькин, Д.Х.Расулева, В.В.Ершов, А.И.Прокофьев, С.П.Солодовников, Н.Н.Бубнов, С.Г.Кукес. Изв. АН СССР, сер.хим., № 5, 1212 (1972).
17. S.T.McDowell, C.J.M.Stirling. J.Chem.Soc.(B), 343 (1967).
18. С.В.Богатков, Л.В.Быстров, Р.И.Кругликова. Реакц. способн.орган.соедин., 15, 180 (1978).
19. V.Frenna, N.Vivona, G.Consiglio, D.Spinelli. J.Chem.Soc. Perkin Trans.II, 1865 (1985).
20. E.Folkers, O.Runquist. J.Org.Chem., 29, 830 (1964).
21. B.Schreiber, H.Martinek, P.Wolschan, P.Schuster. J.Am. Chem.Soc., 101, 4708 (1979).
22. R.Ta-Shma, Z.Rappoport. J.Am.Chem.Soc., 99, 1845 (1977).
23. R.Ta-Shma, Z.Rappoport. J.Am.Chem.Soc., 98, 8460 (1976).
24. Z.Rappoport, N.Ronen. J.Chem.Soc.Perkin Trans.II, 955 (1972).

УДК 541.127

КИНЕТИЧЕСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ ОКИСЛЕНИЯ NADH ХИНОИДНЫМИ
СОЕДИНЕНИЯМИ

Н.К. Ченас, Ю.Ю. Канапенене, Ю.Ю. Кулис

Институт биохимии АН Литовской ССР, Вильнюс

Поступило 12 августа 1986 г.

Определены термодинамические параметры и кинетический изотопный эффект в реакциях окисления восстановленного никотинамидадениндинуклеотида (NADH) хинойдными соединениями в водной среде при pH 7,0 и 25 °C. Установлено, что повышенная реакционная способность о-хинонов обусловлена более положительной ΔS^\ddagger по сравнению с п-хинонами. Обсуждаются возможности одностадийного и трехстадийного переноса гидрида в ходе реакции.

Реакции окисления восстановленного никотинамидадениндинуклеотида (NADH) – кофактора дегидрогеназ и его аналогов флавинами и хинойдными соединениями являлись объектом многочисленных исследований¹⁻⁹. Основные изучаемые вопросы – это определение причин специфичности различных классов окислителей³, а также механизм переноса восстановительных эквивалентов¹⁻⁹. В результате проведенных исследований выявлен ряд реакционных серий, в которых существуют корреляционные зависимости между логарифмом констант скорости и редокс потенциалами окислителей^{4,6-8} или постоянными Тафта замещенных аналогов NADH⁹. Наличие кинетического изотопного эффекта в реакциях окисления дейтерированных 1,4-дигидропиридинов позволяет сделать предположение, что окисление протекает путем переноса гидрид-иона^{2,8,9}. В зависимости от типа реакций, для их описания применяются схемы одностадийного^{1,2,8,9} или трехстадийного (электрон, протон, электрон) переноса гидрида^{4,5}.

В работе⁶ показано, что в водной среде существует линейная зависимость между логарифмом константы скорости окисле-

ния NADH и потенциалом двухэлектронного восстановления хинонов, а реакционность о-хинонов более чем на два порядка превышает реакционность п-хинонов. Целью настоящей работы является детальное изучение механизма реакции путем использования дейтерированного NADH, а также выяснение причин повышенной реакционности о-хинонов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

NADH (Reanal, ВНР), тетрациано-п-хинодиметан (ТЦХМ) (Chemapol, СССР), 2,5-диметил-1,4-бензохинон (Aldrich, США), N,N,N',N'-тетраметил-п-фенилендиамин (ТМФД) (BDH Chemicals, Великобритания) использовали без дополнительной очистки. Катион-радикал ТМФД (ТМФД⁺) синтезирован по методу Михаэлиса¹⁰. 1,4-бензохинон, 2-метил-1,4-бензохинон, броманил (тетрабром-1,4-бензохинон), 1,2-нафтохинон, 1,2-нафтохинон-4-сульфонат натрия, 9,10-фенантренхинон (хч) очищали путем перегонки в вакууме или путем двукратной перекристаллизации из бензола или этанола. 4-А монодейтерированный NADH синтезировали ферментативным способом с использованием D₆-дейтерированного этанола¹¹. Степень дейтерирования, определенная методом ЯМР¹², составляла не менее 96 %.

Скорость окисления NADH измеряли флуориметрически по уменьшению флуоресценции при 440 нм (волна возбуждения 340 нм). В работе использовали спектрофлуориметр MPF-4 (Hitachi, Япония). Скорость восстановления ТМФД⁺ измеряли спектрофотометрически используя $\Delta\epsilon_{570} = 11 \text{ ММ}^{-1}\text{СМ}^{-1}$ при помощи спектрофотометра SPESCORD UV-VIS (ГДР). Для флуориметрических измерений концентрация NADH составляла 1,5–30 мкМ, а окислитель находился в 10–50 кратном избытке. Концентрация ТМФД⁺ в спектрофотометрических измерениях составляла 20–100 мкМ, а NADH находился в 10–30 кратном избытке. Для каждой реакции проводили 5–7 опытов, меняя концентрацию реагентов. Эксперименты проводили при 15–45 °С в 0,1 М К-фосфатных буферных растворах pH 7,0, содержащих 1 мМ ЭДТА. В экспериментах с ТЦХМ использовали Li-фосфатный буферный раствор. Отдельные опыты проводили в анаэробных буферных растворах, полученных путем барботирования азотом (осч) в течение 20–30 мин. Азот

дополнительно очищали пропусканием через раствор пирогаллола. Статистическую обработку данных проводили на ЭВМ Д 3-28.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При многократном избытке хинонов окисление NADH до степени превращения 90-95 % протекает по первому порядку. Рассчитанные константы скорости псевдопервого порядка пропорциональны концентрации окислителя, а начальная скорость реакции пропорциональна концентрации NADH. Это обозначает, что окисление NADH хинонами протекает как реакция второго порядка. Величины констант скорости реакции ($k_{ок}$) при 25 °C и pH 7,0 приведены в табл. I. $k_{ок}$ хинонов не зависят от наличия кислорода в реакционной среде, а $k_{ок}$ ТЦХМ в бескислородной среде уменьшается лишь на 5 % по сравнению с аэробной средой. Наличие 2-этил-1,4-гидрохинона (1 мМ) в реакционной среде не влияет на скорость окисления NADH 2-метил-1,4-бензохиноном. Восстановление NADH одноэлектронного окислителя ТМФД⁺ протекает также по бимолекулярному механизму, поскольку начальная скорость реакции пропорциональна концентрациям реагентов, однако при сравнительно небольшой степени восстановления ТМФД⁺ наблюдается отклонение от линейности в координатах $\ln A_{570} - t$ (Рис. I). Это обусловлено ингибированием реакции продуктом восстановления - ТМФД, так как при его добавлении в раствор начальная скорость реакции уменьшается. Наличие кислорода не оказывает заметного влияния на скорость восстановления ТМФД⁺. Так как ТМФД окисляется хинонами, его влияние на скорость окисления NADH хинонами не исследовано.

Увеличение температуры от 15 до 45 °C приводит к увеличению скорости реакции, а данные температурной зависимости $k_{ок}$ линеаризуются в координатах Эйринга. Рассчитанные величины энтальпий и энтропий активации реакций даны в табл. I.

При использовании 4-А монодейтерированного NADH скорость реакции уменьшается. Соотношение констант скорости окисления NADH и NADD при pH 7,0 и 25 °C (k_{HH}/k_{HD}) представлены в табл. I.

Приведенные данные выявляют некоторые особенности меха-

ТАБЛИЦА I. Константы скорости, термодинамические параметры и кинетические изотопные эффекты окисления NADH хиноновыми соединениями при pH 7,0 и 25 °C.

Окислитель	$k_{ок}^*$, л·моль ⁻¹ с ⁻¹	ΔH^\ddagger , ккал·моль ⁻¹	ΔS^\ddagger , э.е.	k_{HH}/k_{HD}
Броманил	1200	-	-	1,05±0,05
ТЦХМ	770	4,3±0,7	-31,4±2,4	1,20±0,06
1,2-нафтохинон-4-сульфонат	540	-	-	1,43±0,07
ТМФД ⁺	36	5,1±0,8	-33,8±2,7	1,30±0,10
1,2-нафтохинон	25	8,0±1,2	-25,0±4,0	1,97±0,05
1,4-бензохинон	4,5	6,7±1,1	-33,0±4,0	1,89±0,08
Фенантренхинон	0,9	11,3±2,0	-20,7±6,6	2,00±0,10
2-метил-1,4-бензохинон	0,75	7,6±1,1	-34,0±4,0	1,77±0,06
2,5-диметил-1,4-бензохинон	0,05	8,3±0,6	-36,0±2,1	1,70±0,10

* относительное стандартное отклонение 0,03-0,05, доверительная вероятность 0,95.

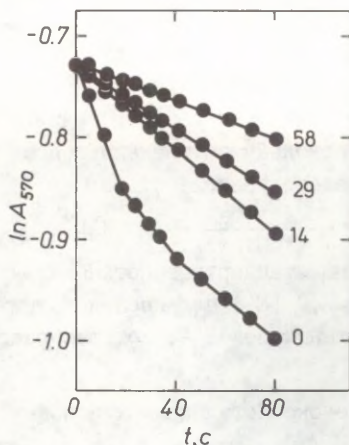
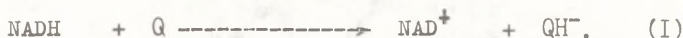


Рис. I. Влияние ТМФД на скорость восстановления ТМФД⁺. Концентрация ТМФД⁺ - 40 мкМ, NADH - 250 мкМ. Цифры обозначают концентрации добавляемого ТМФД (мкМ).

низма окисления NADH хиновыми соединениями. Прежде всего, для исследованных п-хинов величины энтропий активации близки и более отрицательные, чем ΔS^\ddagger о-хинов (Табл. I). Отсюда можно заключить, что реакционная серия п-хинов является изоэнтропийной, а возможной причиной высокой реакционной способности о-хинов является более благоприятная ΔS^\ddagger . Возможно, что именно энтропийные факторы определяют специфичность в реакционных сериях окислителей в реакциях с NADH и его аналогами.

Ключевым вопросом при изучении реакций окисления дигидропиридинов является механизм переноса гидрида. Одностадийный перенос гидрида наиболее вероятен в реакциях дигидропиридинов с ионами пиридиния и акридиния¹³. Однако в случае реакций дигидропиридинов с хинойдными соединениями имеются

аргументы в пользу как одностадийного, так и трехстадийного переноса. Одностадийный перенос предпочтителен из-за значительной эндотермичности одноэлектронного окисления NADH хинонами¹⁴. Авторами работы⁸ сделан вывод, что постоянство $k_{ок}$ хинонов в реакциях окисления NADH в интервале pH 8,0–5,5 обусловлено одностадийным переносом гидрида в лимитирующей стадии реакции, поскольку потенциалы редокс пар Q/QH⁻ (E_{H^-}) и NAD⁺/NADH одинаково зависят от pH:



В табл. 2 приведены стандартные потенциалы редокс пар хинон/гидрохинон при pH 7,0 (E_O^7) для исследованных соединений, а также величины потенциалов $E_{H^-}^7$, которые рассчитаны по данным работ^{8,15}.

Таблица 2. Редокс потенциалы хиноновых соединений при pH 7,0.

Хиноновое соединение	$E_O^7, *$ В	$E_{H^-}^7, **$ В	$E_I^7, ***$ В
ТЦХМ	—	—	0,36
Броманил	0,32	0,32	0,34
1,4-бензохинон	0,28	0,19	0,09
ТМФД ⁺	—	—	0,27
2-метил-1,4-бензохинон	0,21	0,13	0,01
1,2-нафтохинон-4-сульфонат	0,21	0,19	—
2,5-диметил-1,4-бензохинон	0,16	0,07	-0,08
1,2-нафтохинон	0,14	0,09	—
Фенантренхинон	0,02	-0,01	—

* данные работ^{6,15}.

** $E_{H^-}^7 = E_O^7 - 0,029(pK_a - 7)$, когда pK_a гидрохинона больше 7,0, и $E_{H^-}^7 = E_O^7$, когда $pK_a \leq 7,0$.

*** данные работ^{6,16,17}.

Для описания реакционноспособности бензохинонов при pH

7,0 в рамках одностадийного механизма гидридного переноса по данным работы⁸ рассчитаны корреляционные зависимости:

$$\lg k_{\text{ок}} = (-2,12 \pm 0,71) + (16,54 \pm 3,42) E_{\text{H}}^7, \quad (2)$$

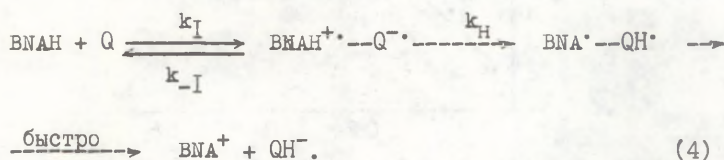
(п-хиноны, $r = 0,9792$),

$$\lg k_{\text{ок}} = (-0,70 \pm 1,08) + (16,43 \pm 4,21) E_{\text{H}}^7, \quad (3)$$

(о-хиноны, $r = 0,9611$).

Как видно из рис. 2, определенные в настоящей работе $k_{\text{ок}}$ хинонов удовлетворительно описываются этими корреляционными зависимостями.

С другой стороны, в работе Танаки и сотр.⁴ показано, что окисление аналога NADH - I-бензил-I,4-дигидроникотинамида (BNAH) хинонами в ацетонитриле протекает трехстадийно с образованием радикальных пар в ходе реакции:



Для этой реакции $k_{\text{ок}}$ хинонов увеличиваются с увеличением их потенциала одноэлектронного восстановления⁴. Поэтому интерес представляет связь реакционноспособности хинонов и их потенциалов одноэлектронного восстановления в водной среде, а также сравнение реакционноспособности хинонов и одноэлектронных хиноновых окислителей со сходными редокс потенциалами. Величины потенциалов одноэлектронного восстановления исследованных хиноновых соединений при pH 7,0 (E_{H}^7) приведены в табл. 2.

Приведенные данные показывают, что $\text{TMFD}^{+ \cdot}$, потенциал которого находится в области E_{H}^7 использованных хинонов (Табл. 2) окисляет NADH одноэлектронным путем. Об этом свидетельствует ингибирование реакции продуктом восстановления (Рис. 1), что характерно для окисления дигидропиридинов слабыми одноэлектронными окислителями, когда стадия переноса первого электрона обратима². Интерес представляет то, что

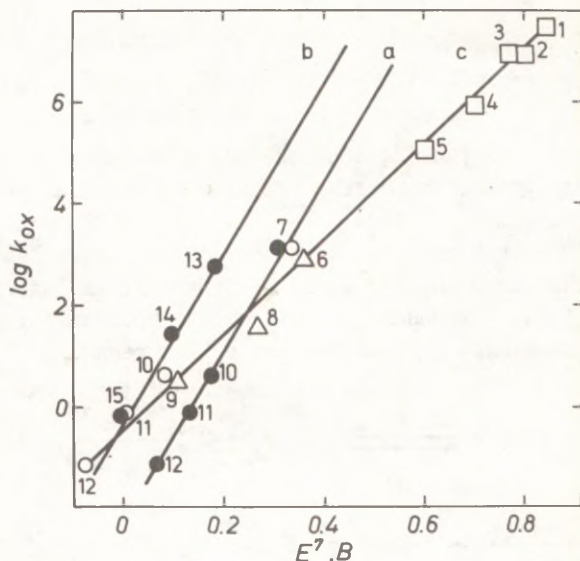


Рис. 2. Зависимость $k_{\text{ок}}$ хиноновых окислителей от редокс потенциала при pH 7,0. Прометазин $^{+\bullet}$ (1), м-бензосемихинон (2), хлорпромазин $^{+\bullet}$ (3), промазин $^{+\bullet}$ (4), п-метоксифеноксил (5), ТЦХМ (6), броманил (7), ТМФД $^{+\bullet}$ (8), ТЦХМ $^{-\bullet}$ (9), 1,4-бензохинон (10), 2-метил-1,4-бензохинон (11), 2,5-диметил-1,4-бензохинон (12), 1,2-нафтохинон-4-сульфонат (13), 1,2-нафтохинон (14), фенантренхинон (15). (1,5)-данные⁷, (9)-данные⁶, корреляционные прямые (а), (б), (в) описываются ур. (2), (3), (5).

$k_{\text{ок}}^{\text{ТМФД}^{+\bullet}}$ близка к $k_{\text{ок}}$ п-хинонов с соответствующим E_{I}^7 , и существует корреляционная зависимость между $\lg k_{\text{ок}}$ и E_{I}^7 ок-

ислителей, которая применима для п-хинонов, ТЦХМ, ТМФД⁺ и ряда других радикальных хиноновых окислителей^{6,7} (Рис. 2):

$$\lg k_{\text{ок}} = (-0,41 \pm 0,27) + (9,05 \pm 0,53) E_I^7, \quad (5)$$

$$(r = 0,9886).$$

В пользу того, что п-хиноны и одноэлектронные хиноновые окислители могут принадлежать к одной реакционной серии, свидетельствуют и близкие ΔS^\ddagger п-хинонов, ТЦХМ и ТМФД⁺ (Табл. I). Отсутствие зависимости $k_{\text{ок}}$ хинонов от pH также можно объяснить тем, что разница редокс потенциалов $Q/Q^{\cdot-}$ и $\text{NADH}^{\cdot+}/\text{NADH}$ не зависит от pH^{7,16}.

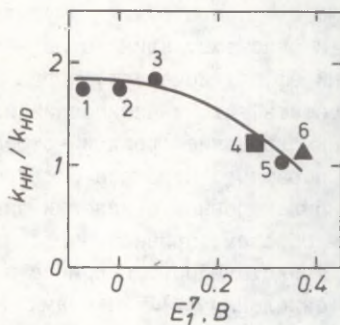


Рис. 3. Зависимость $k_{\text{HH}}/k_{\text{HD}}$ хиноновых окислителей от потенциала одноэлектронного восстановления. 2,5-диметил-1,4-бензохинон (1), 2-метил-1,4-бензохинон (2), 1,4-бензохинон (3), ТМФД⁺ (4), броманил (5), ТЦХМ (6).

Кинетический изотопный эффект реакции (Табл. I) также может объясняться в рамках модели трехстадийного переноса гидрида (ур. 4). Необходимо отметить, что $k_{\text{HH}}/k_{\text{HD}}$, определенные при замещении более реакционноспособного, не засло-ненного адениновым кольцом, 4-А протона в дигидроникотинамидовом кольце весьма точно отражают изменение первичного кин-

етического изотопного эффекта (k_H/k_D), как это показано в работе Карлсона и Миллера⁸. При сравнении данных табл. I, 2 видно, что изотопный эффект уменьшается с увеличением реакционноспособности окислителей. Данные рис. 3 аналогичны данным Танаки и сотр.⁴, где k_H/k_D в реакциях окисления NADH уменьшается от 5-6 (алкилзамещенные бензохиноны) до 1,5 (2, 3-дихлор-5,6-дициано-1,4-бензохинон). Можно предположить, с использованием ур. (4), что окислительные константы реакции равны $k_I k_H / (k_{-I} + k_H)$. Так как pK_a одноэлектронно восстановленных форм окислителей меняются от 0 до 6,5, а pK_a NADH⁺ в водной среде равен -4 или -3,5^{14,18}, k_H для использованных окислителей не должна существенно меняться¹⁹. По-видимому, в случае низкопотенциального окислителя при малых величинах k_I/k_{-I} , k_{-I} соизмерима с k_H , поэтому k_H , чувствительная к замещению дейтерием, и оказывает влияние на величину $k_{ок}$. Кинетический изотопный эффект исчезает, когда $k_{-I} \ll k_H$, и $k_{ок} = k_I$. Следует отметить, что кинетический изотопный эффект, обусловленный конкурированием реакций отщепления протона от катион-радикала и обратного переноса электрона (ур. 4) отмечен также при одноэлектронном окислении дигидропиридинов феррицианидом². Таким образом, приведенные данные свидетельствуют о возможности трехстадийного переноса восстановительных эквивалентов при окислении NADH хинонами в водной среде.

ЛИТЕРАТУРА

1. M.F. Powell, W.H. Wong, T.C. Bruice. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 79, 4604 (1982).
2. M.F. Powell, J.C. Wu, T.C. Bruice. J. Am. Chem. Soc., 106, 3850 (1984).
3. A. Kitani, Y.-H. So, L.L. Miller. Ibid., 103, 7636 (1981).
4. S. Fukuzumi, N. Nishizawa, T. Tanaka. J. Org. Chem., 49, 3571 (1984).
5. S. Fukuzumi, Y. Kondo, T. Tanaka. J. Chem. Soc. Perkin Trans. II, 673 (1984).
6. N.K. Čėnas, J.J. Kanapienienė, J.J. Kulys. Biochim. Biophys. Acta, 767, 108 (1984).
7. J. Grodkowski, P. Neta, B.W. Carlson, L.L. Miller. J.

- Phys. Chem., 87, 3135 (1983).
8. B.W. Carlson, L.L. Miller. J. Am. Chem. Soc., 107, 479 (1984).
 9. R. Stewart, D.J. Norris. J. Chem. Soc. Perkin Trans. II, 246 (1978).
 10. L. Michaelis, S. Granick. J. Am. Chem. Soc., 65, 147 (1943).
 11. A. Brown, J.F. Fisher. Ibid., 98, 5682 (1976).
 12. N.J. Oppenheimer, L.J. Arnold, N.O. Kaplan. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 68, 3200 (1971).
 13. M.F. Powell, T.C. Bruice. J. Am. Chem. Soc., 105, 7139 (1983).
 14. B.W. Carlson, L.L. Miller, P. Neta, J. Grodkowski. Ibid., 106, 7233 (1984).
 15. S.I. Bailey, I.M. Ritchie. Electrochim. Acta, 30, 3 (1985).
 16. P.R. Rich, D.S. Bendall, Biochim. Biophys. Acta, 592, 506 (1980).
 17. B.L. Trumpower. Function of quinones in energy conserving systems. NY, Academic Press, 1982, 582 p.
 18. F.M. Martens, J.W. Verhoeven. Recl. Trav. Chim. Pays-Bas, 100, 228 (1981).
 19. Р. Белл. Протон в химии. М., Мир, 1977, 381 с.

УДК 531.127

ПЕРВИЧНЫЙ СОЛЕВОЙ ЭФФЕКТ ДЛЯ ДИССОЦИИИ ДИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ

М.М. Карельсон

Лаборатория химической кинетики и катализа, Тартуский госу-
дарственный университет, 202400 г. Тарту, Эстонская ССР

Поступило 21 августа 1986 г.

Приведены результаты статистической обработ-
ки зависимости экспериментальных значений pK пер-
вой и второй ступеней диссоциации дикарбонowych
кислот от концентрации добавленного нейтрального
электролита в водных растворах на основе ранее
предложенной модифицированной теории растворов
электролитов. Произведен вывод необходимой форму-
лы для зависимости коэффициента активности т.н.
болаформных ионов $^-OOC(CH_2)_nCOO^-$ от концентрации
электролита.

В предыдущем сообщении¹ проверена применимость простой
электростатической теории растворов электролитов^{2, 3} для
описания зависимости наблюдаемой константы диссоциации мо-
нокарбонowych кислот от концентрации добавленного нейтраль-
ного электролита. Было показано, что для равновесия



наблюдаемая константа диссоциации

$$K_c = \frac{C_A - C_{H^+}}{C_{AH}} \quad (2)$$

имеет следующую зависимость от концентрации электролита в растворе, c^I :

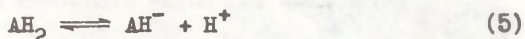
$$pK_c = pK_a + 2a_t \sqrt[3]{c} + \Delta b \cdot c, \quad (3)$$

где pK_a является термодинамическим, соответствующим стандартному состоянию значением pK , а теоретический множитель a_t , описывающий межионное электростатическое взаимодействие в растворе, зависит только от валентного типа добавляемого электролита и диэлектрической проницаемости растворителя. Параметр Δb характеризует специфическое взаимодействие участвующих в равновесии (I) частиц с растворителем.

Последнее уравнение может быть переписано также в виде:

$$pK_c - 2a_t \sqrt[3]{c} = pK_a + \Delta b \cdot c, \quad (4)$$

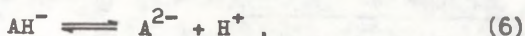
где в левой части имеется известная функция от концентрации электролита в растворе. Соблюдение этой линейной зависимости для pK первой ступени диссоциации некоторых дикарбоновых кислот



проиллюстрировано на рис. I.

Результаты соответствующей статистической обработки экспериментальных данных методом линейных наименьших квадратов для ряда дикарбоновых кислот представлены в табл. I. На основе полученных результатов можно заключить, что в пределах экспериментальных погрешностей наблюдаемые константы диссоциации описаны адекватно во всей области исследуемых концентраций добавленного электролита в растворе ($v < 0,01$ ед. pK , $r > 0,999$).

Следуя принципу Бренстеда-Беррума, первичный солевой эффект для наблюдаемой константы второй ступени диссоциации дикарбоновых кислот



описывается в общем виде, как

$$K_{2c} = K_{2a} \frac{f_{AH^-}}{f_{A^{2-}} f_{H^+}}, \quad (7)$$

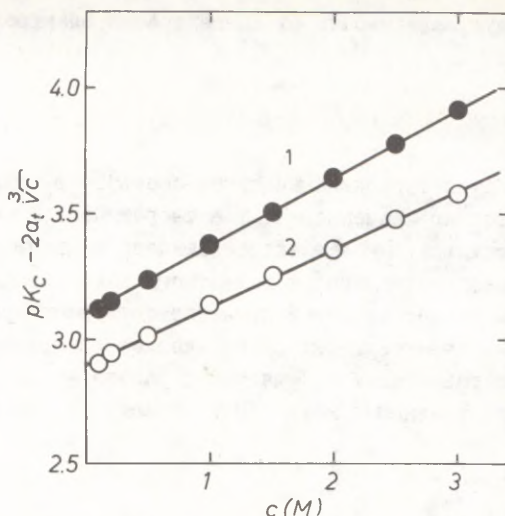


Рис. 1. Линейная зависимость функций $pK_c - 2\alpha_t \sqrt[3]{c}$ от концентрации добавленного электролита в водных растворах при 25°C (1 — фумарная кислота в растворе KCl; 2 — малоновая кислота в растворе NaCl).

или
$$pK_{2c} = pK_{2a} - \log \frac{f_{AH^-}}{f_{A^{2-}} f_{H^+}}, \quad (7a)$$

где $f_{A^{2-}}$, f_{AH^-} и f_{H^+} обозначают коэффициенты активности соответствующих ионов, а K_{2a} является значением константы диссоциации при стандартных условиях.

Исследование зависимости константы K_{2c} от концентрации добавленного нейтрального электролита осложнено присутствием коэффициента активности $f_{2A^{2-}}$ для болаформного иона* типа



* Болаформный ион определен как молекулярная частица, в которой два одноименных ионных заряда локализованы на разных атомах или группах атомов.

Таблица I

Результаты статистической обработки наблюдаемых констант первой ступени диссоциации некоторых дикарбоновых кислот в водных растворах согласно уравн. (4)

№ пп	Кислота	Доба- вочный элект- ролит	pK _a	Δb	г ^a	с ^б	с _о ^в
1.	CH ₂ (COOH) ₂	NaCl	2.895+ ±0.006-	0.229+ ±0.004-	0.9993	0.010	0.015
		KCl	2.904+ ±0.005-	0.246+ ±0.003-	0.9995	0.009	0.013
2.	(CH ₂) ₂ (COOH) ₂	NaCl	4.263+ ±0.005-	0.240+ ±0.003-	0.9996	0.008	0.011
		KCl	4.272+ ±0.004-	0.258+ ±0.002-	0.9998	0.006	0.008
3.	(CH ₂) ₃ (COOH) ₂	NaCl	4.385+ ±0.005-	0.267+ ±0.003-	0.9997	0.008	0.011
		KCl	4.396+ ±0.003-	0.286+ ±0.002-	0.9999	0.005	0.006
4.	(CH ₂) ₄ (COOH) ₂	NaCl	4.472+ ±0.005-	0.269+ ±0.004-	0.9995	0.009	0.013
		KCl	4.481+ ±0.006-	0.289+ ±0.004-	0.9995	0.010	0.013
5.	(CH ₂) ₅ (COOH) ₂	NaCl	4.543+ ±0.006-	0.277+ ±0.004-	0.9995	0.010	0.013
		KCl	4.551+ ±0.004-	0.297+ ±0.003-	0.9998	0.007	0.008
6.	(CH ₂) ₆ (COOH) ₂	NaCl	4.573+ ±0.005-	0.275+ ±0.003-	0.9996	0.009	0.011
		KCl	4.588+ ±0.005-	0.299+ ±0.003-	0.9997	0.008	0.010
7.	(CH ₂) ₇ (COOH) ₂	NaCl	4.598+ ±0.005-	0.276+ ±0.003-	0.9997	0.008	0.010
		KCl	4.604+ ±0.003-	0.296+ ±0.002-	0.9999	0.006	0.007
8.	цис- (CH) ₂ (COOH) ₂	NaCl	1.984+ ±0.009-	0.205+ ±0.005-	0.9979	0.015	0.026
		KCl	1.988+ ±0.006-	0.228+ ±0.004-	0.9992	0.010	0.016
9.	транс- (CH) ₂ (COOH) ₂	NaCl	3.083+ ±0.003-	0.256+ ±0.002-	0.9999	0.004	0.006

а — коэффициент корреляции

б — стандартное отклонение

в — относительное стандартное отклонение ($s_0 = s^2/\sigma^2$
где σ^2 — дисперсия коррелируемой величины).

в формуле (7). В двухзарядном анионе (I) отсутствует сферическая симметрия распределения ионного заряда внутри частицы, что приводит также к нарушению такой же симметрии в распределении ионов электролита вокруг него^{5, 6}. Следовательно, для болаформного иона нельзя использовать выведенную ранее³ формулу для концентрационной зависимости логарифма коэффициента активности:

$$\log f_1 = a_t \sqrt[3]{c} + b_1 c \quad (8)$$

для простых ионов.

Однако такая формула для $\log f_{A2}$ может быть выведена на основе исходных уравнений модифицированной электростатической теории ионных растворов, представленной в наших предыдущих работах^{1, 2}. Исходя из принципа линейной суперпозиции электростатических полей ионных зарядов, электростатическая свободная энергия болаформного иона $\Delta G_{эл}(бф)$ может быть разделена на следующие вклады отдельных электростатических взаимодействий:

$$\Delta G_{эл}(бф) = \Delta G_{бф} + 2 \Delta G_{ii} + 2 \Delta G_{ij} + \Delta G_{jj}, \quad (9)$$

где

$$\Delta G_{бф} = \frac{(ze)^2}{\epsilon a_0} \quad (10)$$

является просто электростатической энергией взаимодействия двух анионных зарядов ze в частице (I), располагаемых на расстоянии a_0 .

Второй член в уравнении (9):

$$\Delta G_{ii} = \frac{ze}{\epsilon} \int_0^{\infty} 4\pi r^2 \rho(r) dr = - \frac{(ze)^2 \rho e}{2\epsilon} \quad (11)$$

описывает взаимодействие каждого ионного заряда ze с собственной ионной атмосферой в растворе. Функция

$$\varrho(r) = \frac{ze\kappa^2}{4\pi} \frac{e^{-\kappa r}}{r} \quad (12)$$

является плотностью заряда в ионной атмосфере на расстоянии r от центрального иона, а κ обозначает характерный коэффициент в хорошо известном линейаризованном уравнении Пуассона⁷ для электростатического потенциала ψ в центральном поле:

$$\nabla^2 \psi = - \frac{4\pi \varrho(r)}{\varepsilon} = \kappa^2 \psi \quad (13)$$

Отметим, что в последних уравнениях ε обозначает макроскопическую диэлектрическую проницаемость растворителя. В модифицированной нами электростатической теории растворов электролитов² параметр κ определен как

$$\kappa = \frac{2\sqrt{\pi}}{l} = \alpha \sqrt[3]{c}, \quad (14)$$

где l является средним расстоянием между разноименно заряженными ионами в растворе, а α — универсальная постоянная для электролита данного зарядового типа.

Составляющая ΔG_{ij} в уравнении (9) учитывает взаимодействие одного ионного заряда внутри болаформной частицы (I) с ионной атмосферой другого. Используя при интегрировании теорему Гаусса-Остроградского, получаем следующий вид для зависимости свободной энергии ΔG_{ij} от концентрации добавленного электролита:

$$\begin{aligned} \Delta G_{ij} &= \frac{ze}{\varepsilon a_0} \int_0^{a_0} 4\pi r^2 \varrho(r) dr + \frac{ze}{\varepsilon} \int_{a_0}^{\infty} 4\pi r \varrho(r) dr = \\ &= \frac{(ze)^2}{\varepsilon a_0} (e^{-\kappa a_0} - 1) \end{aligned} \quad (15)$$

Электростатическое взаимодействие двух ионных атмосфер анионных зарядов в болаформной частице учтено в последнем члене уравнения (9), ΔG_{jj} . Окончательный вид этого вклада имеет следующую форму:

$$\Delta G_{jj} = \int_0^{\infty} 4\pi a^2 \varrho(a) da \int_0^{\infty} \frac{4\pi r^2 \varrho(r) dr}{|\vec{r} - \vec{a}|} = - \frac{(ze)^2}{\varepsilon a_0} (e^{-\kappa a_0} - 1). \quad (16)$$

где a и r обозначают расстояние от двух анионных зарядов, соответственно, а \vec{a} и \vec{r} — соответствующие радиус-векторы.⁸

Полная электростатическая свободная энергия болаформного иона в растворе электролита имеет тогда следующий вид:

$$\Delta G_{эл}(\phi) = \frac{(ze)^2}{\epsilon a_0} e^{-\kappa a_0} - \frac{(ze)^2 \kappa}{2\epsilon} \quad (17)$$

В случае бесконечно разбавленных растворов, т.е. в пределе $\kappa \rightarrow 0$:

$$\lim_{\kappa \rightarrow 0} \Delta G_{эл}(\phi) = \frac{(ze)^2}{\epsilon a_0} \quad (18)$$

эта энергия равна энергии взаимодействия ионных зарядов внутри болаформной частицы. Электростатическая избыточная свободная энергия $\Delta G_{изб}$, однако, не содержит этого вклада, так как она остается постоянной независимо от концентрации электролита в растворе. Тогда

$$\Delta G_{изб} = \Delta G_{эл}(\phi) - \frac{(ze)^2}{\epsilon a_0} = \frac{(ze)^2}{\epsilon a_0} (e^{-\kappa a_0} - 1) - \frac{(ze)^2 \kappa}{2\epsilon} \quad (19)$$

Учитывая теперь формальную связь избыточной свободной энергии с коэффициентом активности f данной частицы в растворе:

$$\Delta G_{изб} = RT \ln f = 2.303 RT \log f \quad (20)$$

для логарифма коэффициента активности болаформного иона можно переписать следующее уравнение:

$$\begin{aligned} \log f_A^{2-} = & \frac{(ze)^2}{2.303 \epsilon RT a_0} (e^{-\kappa a_0} - 1) - \frac{(ze)^2 \kappa}{4.606 \epsilon RT} + \\ & + \frac{2V_S(A^{2-})}{2.303} c = \frac{73369.4}{\epsilon T a_0} (e^{-\kappa a_0} - 1) - \frac{10824.3}{\epsilon T} \sqrt[3]{\nu c} + b.c., \end{aligned} \quad (21)$$

где ν обозначает число ионов в молекуле добавочного нейтрального электролита, а T — температура ($^{\circ}\text{K}$). Последний член в правой части уравнения (21) учитывает в рамках структурной теории растворов электролитов I изменение взаимодей-

ствия между растворенным ионом (A^{2-}) и растворителем. Величина b является постоянной, которая пропорциональна объему переструктурирования растворителя $V_S(A^{2-})$ для болаформного иона в растворе данного электролита.

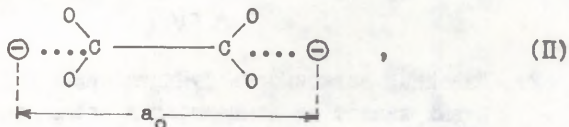
После подставления полученного результата (ур. (21)) в уравнение (7^a), зависимость константы второй ступени диссоциации дикарбоновых кислот от концентрации добавочного электролита приобретает следующий вид:

$$pK_{2c} = pK_{2a} - \frac{10824.3}{\epsilon T} \sqrt[3]{\sqrt{c}} + \frac{73369.4}{\epsilon T a_0} (e^{-0.2993 a_0 \sqrt[3]{\sqrt{c}}} - 1) + \Delta b c, \quad (22)$$

где $\Delta b = b_{A^{2-}} + b_{H^+} - b_{AH^-}$ является характерным коэффициентом для данной дикарбоновой кислоты в растворе данного электролита. В случае добавления 1:1 электролитов в водные растворы при 25°C последнюю формулу можно упростить к виду:

$$pK_{2c} = pK_{2a} - 0.572 \sqrt[3]{\sqrt{c}} + \frac{3.098}{a_0} (e^{-0.377 a_0 \sqrt[3]{\sqrt{c}}} - 1) + \Delta b \cdot c. \quad (23)$$

В последних формулах расстояние a_0 дано в ангстремах (\AA). Нетрудно заметить, что полученные окончательные уравнения (22) и (23) для солевого эффекта в случае равновесия (6) представляют существенно нелинейную зависимость величины pK_{2c} от $\sqrt[3]{\sqrt{c}}$. Поэтому для статистической проверки предложенной модели необходима обработка экспериментальных данных методом нелинейных наименьших квадратов. Однако, если оценить расстояние a_0 между ионными зарядами из подходящих молекулярных моделей, можно проверить уравнение (23) в полилинейном или линейном виде. Исходим из представления дианиона дикарбоновой кислоты



где ионные заряды локализованы на биссектрисе угла OCO в карбоксилат-группе на расстоянии 1.0 \AA от атома углерода. В таком случае нетрудно вычислить значение a_0 для данной

конформации иона (П), а также функцию в левой части преобразованного уравнения (23):

$$pK_{2c} - \frac{3,098}{a_0} (e^{-0,377a_0 \sqrt[3]{c}} - 1) = pK_{2a} - 0,572 \sqrt[3]{c} + \Delta bc \quad (24)$$

Последняя формула может быть представлена также в линейном виде:

$$pK_2' \equiv pK_{2c} - \frac{3,098}{a_0} (e^{-0,377a_0 \sqrt[3]{c}} - 1) + 0,572 \sqrt[3]{c} = pK_{2a} + \Delta bc \quad (25)$$

Обозначая известную функцию в этом уравнении через pK_2' , получаем аналогичную зависимость с уравнением для первичного солевого эффекта монокарбоновых кислот (уравн. (4)). Сопровождение линейной зависимости (25) для малоновой и малеиновой кислот, где межкислотное расстояние в дианионе жестко зафиксировано, проиллюстрировано на рис. 2.

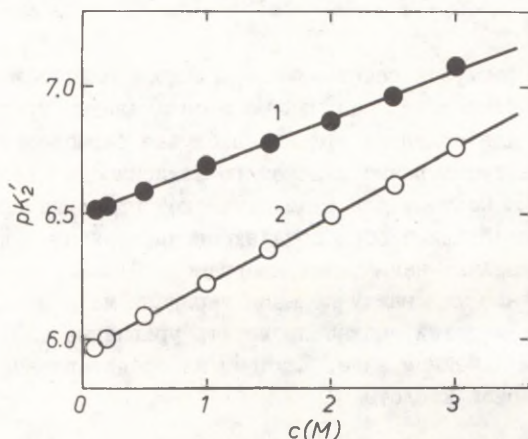


Рис. 2. Линейная зависимость функции pK_2' (25) для дикарбоновых кислот от концентрации добавочного электролита в водных растворах при 25°C (1 — малеиновая кислота в растворе NaCl; 2 — малоновая кислота в растворе KCl).

В предположении транс-конфигурации углеводородного остова более высоких дикарбоновых кислот можно оценить расстояние между ионными зарядами в их дианионах. В табл. 2 представлены результаты линейной регрессии экспериментальных значений pK_{2c} для ряда кислот согласно уравнению (25), исходя из этих модельных расстояний a_0 .

Следует отметить, что точность статистического описания не ниже, чем в случае описания констант первой ступени диссоциации дикарбоновых кислот по более простой формуле (4) (ср. табл. 1 и 2). В большинстве случаев коэффициент корреляции $r > 0,999$, а погрешность оценки pK_a менее 0,01 единиц.

Однако, в случае более высоких значений, расстояния a_0 наблюдается слабая зависимость параметров линейной регрессии от принимаемого значения этой величины. Нетрудно показать, что в таких случаях вклад экспоненциального члена, характерного для коэффициента активности болаформного иона, существенно меньше других эффектов на свободную энергию диссоциации (взаимодействие ионных центров с собственной ионной атмосферой и изменение взаимодействия дианиона с растворителем). Поэтому следует пользоваться обработкой экспериментальных данных методом нелинейных наименьших квадратов согласно уравнению:

$$pK_{2c} + 0,572 \sqrt[3]{c} = pK_{2a} + \frac{3,098}{a_0} (e^{-0,377a_0 \sqrt[3]{c}} - 1) + \Delta b \cdot c \quad (26)$$

для получения статистически усредненных значений расстояния a_0 . В табл. 3 приведены результаты такой обработки методом Гаусса-Ньютона⁹, где искомыми параметрами в уравнении (26) были pK_{2a} , a_0 и Δb^* . Общее описание экспериментальных данных согласно уравнениям (25) и (26) характеризуется сравнимой точностью (ср. значения стандартного отклонения в таблицах 2 и 3). Полученные из обработки согласно уравн. (26) значения a_0 близки к модельным оценкам (II)

* Обработка данных методами скорейшего спуска¹⁰ и Марквардта¹¹ приводит к идентичным результатам.

Таблица 2

Результаты статистической обработки наблюдаемых констант второй ступени диссоциации
некоторых дикарбоновых кислот в водных растворах⁴ согласно уравнению (25)

№ пп	Кислота	Добавоч- ный элек- тролит	$a_{\text{сo}}$ (А)	pK_a	Δb	b г	b с	b с ₀	г
1	2	3	4	5	6	7	8	9	
1.	$\text{CH}_2(\text{COOH})_2$	NaCl	4.35	5.884 ± 0.007	0.239 ± 0.004	0.9990	0.012	0.018	
		KCl		5.937 ± 0.007	0.274 ± 0.004	0.9993	0.012	0.016	
2.	$(\text{CH}_2)_2(\text{COOH})_2$	NaCl	5.57	5.856 ± 0.007	0.267 ± 0.004	0.9993	0.012	0.016	
		KCl		5.845 ± 0.007	0.299 ± 0.004	0.9995	0.011	0.013	
3.	$(\text{CH}_2)_3(\text{COOH})_2$	NaCl	6.54	5.578 ± 0.005	0.272 ± 0.003	0.9996	0.009	0.011	
		KCl		5.581 ± 0.004	0.283 ± 0.003	0.9998	0.007	0.009	
4.	$(\text{CH}_2)_4(\text{COOH})_2$	NaCl	8.20	5.539 ± 0.007	0.263 ± 0.004	0.9993	0.011	0.015	
		KCl		5.574 ± 0.005	0.279 ± 0.003	0.9996	0.009	0.011	
5.	$(\text{CH}_2)_5(\text{COOH})_2$	NaCl	9.10	5.555 ± 0.008	0.257 ± 0.005	0.9990	0.014	0.019	
		KCl		5.590 ± 0.005	0.273 ± 0.003	0.9997	0.008	0.010	
6.	$(\text{CH}_2)_6(\text{COOH})_2$	NaCl	10.30	5.546 ± 0.006	0.259 ± 0.004	0.9994	0.011	0.014	
		KCl		5.549 ± 0.006	0.281 ± 0.003	0.9996	0.009	0.012	

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9
7.	$(\text{CH}_2)_7(\text{COOH})_2$	NaCl	11.90	5.529 ± 0.008	0.252 ± 0.004	0.9991	0.013	0.018
		KCl		5.533 ± 0.016	0.281 ± 0.009	0.9967	0.027	0.033
8.	цис- $(\text{CH})_2(\text{COOH})_2$	NaCl	3.34	6.496 ± 0.007	0.191 ± 0.004	0.9987	0.011	0.021
		KCl		6.477 ± 0.005	0.231 ± 0.003	0.9996	0.008	0.012
9.	транс- $(\text{CH})_2(\text{COOH})_2$	NaCl	5.62	4.672 ± 0.004	0.253 ± 0.003	0.9997	0.007	0.010
		KCl		4.671 ± 0.003	0.279 ± 0.002	0.9999	0.005	0.006

а — расстояние между ионными зарядами в дианионе кислоты

б — коэффициент корреляции

в — стандартное отклонение

г — относительное стандартное отклонение (см. табл. I).

в случае коротких углеводородных цепей в молекулах дикарбоновых кислот. В случае более высоких членов ряда этих кислот можно отметить систематическое отклонение "экспериментальных" значений расстояний a_0 в сторону более коротких величин (см. рис. 3). Отсюда напрашивается вывод о

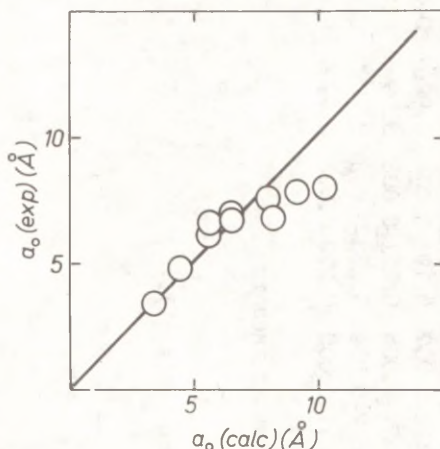


Рис. 3. Зависимость между модельными (Π) и полученными из обработки экспериментальных данных по первичному солевому эффекту согласно уравнению (26) расстояниями a_0 для ряда дикарбоновых кислот.

нарушении жесткой транс-конформации в дианионах этих кислот в растворе. Очевидно, в этом случае в растворе присутствует равновесная смесь различных конформеров и параметр a_0 , полученный из уравнения (26), представляет собой определенную формальную величину, которая указывает на сокращение расстояния между анионными центрами в болаформном дианионе.

С другой стороны, различие в стандартных отклонениях корреляций, произведенных согласно уравнениям (25) и (26), статистически незначительно. Поэтому следует признать, что в случае более длинных межионных расстояний a_0 в болаформной частице, вместо фиксированного значения a_0 можно пользоваться лишь усредненной величиной.

Таблица 3

Результаты статистической обработки наблюдаемых констант второй ступени диссоциации некоторых дикарбоновых кислот в водных растворах методом нелинейных наименьших квадратов согласно уравн. (26)

№ пп	Кислота	Добавоч- ный элек- тролит	pK_{2a}	σ_o (Å)	Δb	s^a	s_o^b
1	2	3	4	5	6	7	8
1.	$CH_2(COOH)_2$	NaCl	$5.852++0.019$	$4.86++0.48$	$0.217++0.011$	0.011	0.025
		KCl	$5.902++0.017$	$4.96++0.44$	$0.250++0.010$	0.010	0.033
2.	$(CH_2)_2(COOH)_2$	NaCl	$5.832++0.026$	$6.44++0.81$	$0.256++0.011$	0.013	0.021
		KCl	$5.801++0.019$	$6.93++0.63$	$0.282++0.008$	0.009	0.013
3.	$(CH_2)_3(COOH)_2$	NaCl	$5.590++0.021$	$6.32++0.65$	$0.278++0.009$	0.011	0.016
		KCl	$5.572++0.017$	$6.96++0.59$	$0.280++0.007$	0.008	0.012
4.	$(CH_2)_4(COOH)_2$	NaCl	$5.594++0.010$	$6.38++0.30$	$0.283++0.004$	0.005	0.007
		KCl	$5.604++0.019$	$7.23++0.64$	$0.290++0.007$	0.009	0.012
5.	$(CH_2)_5(COOH)_2$	NaCl	$5.593++0.034$	$7.70++1.23$	$0.269++0.012$	0.015	0.021
		KCl	$5.618++0.020$	$8.10++0.76$	$0.282++0.006$	0.008	0.011
6.	$(CH_2)_6(COOH)_2$	NaCl	$5.604++0.013$	$7.86++0.50$	$0.275++0.005$	0.006	0.008
		KCl	$5.601++0.012$	$8.12++0.47$	$0.294++0.004$	0.005	0.007
7.	$(CH_2)_7(COOH)_2$	NaCl	$5.601++0.022$	$8.46++0.88$	$0.268++0.007$	0.009	0.013
		KCl	$5.642++0.055$	$7.08++1.87$	$0.309++0.022$	0.026	0.033
8.	мис- $(CH)_2(COOH)_2$	NaCl	$6.525++0.017$	$3.44++0.36$	$0.213++0.014$	0.011	0.033
		KCl	$6.505++0.006$	$3.46++0.13$	$0.252++0.005$	0.004	0.009

<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>	<u>7</u>	<u>8</u>
9. транс- (CH) ₂ (COOH) ₂	NaCl	4.649+ +0.013	6.46+ +0.39	0.243+ +0.005	0.006	0.011	
	KCl	4.657+ +0.008	6.16+ +0.24	0.273+ +0.004	0.004	0.006	

а — стандартное отклонение

б — относительное стандартное отклонение (см. табл. I).

Однако в случае более коротких межионных расстояний внутри мультисзаряженных частиц и в случае их жестких конформаций данные первичного солевого эффекта содержат важную информацию о распределении ионного заряда в них.

Литература

1. М.М. Карельсон, этот журнал, 22, 388 (1985).
2. М.М. Карельсон, этот журнал, 21, 160 (1984).
3. М.М. Карельсон, этот журнал, 22, 362 (1985).
4. B. Adell, Z. phys. Chem., A 185, 161 (1939).
5. O.D. Bonner, O.C. Rodgers, J. Phys. Chem., 65, 981 (1961).
6. G.S. Manning, J. Chem. Phys., 43, 4268 (1965).
7. R.A. Robinson, R.H. Stokes, Electrolyte Solutions, Butterworths, London, 1959.
8. J.A. Pople, D.L. Beveridge, Approximate Molecular Orbital Theory, McGraw-Hill, New York, 1970.
9. K.J. Johnson, Numerical Methods in Chemistry, Marcel Dekker, Inc., New York, 1980.
10. R. Fletcher, C.M. Reeves, Comput. J., 7, 149 (1964).
11. G.R. Walsh, Methods of Optimization, J. Wiley & Sons, New York, 1975.

УДК 531.127

ПЕРВИЧНЫЙ СОЛЕВОЙ ЭФФЕКТ И РЕАКЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ БОЛАФОРМНЫХ И ЦВИТТЕРИОНОВ

М.М. Карельсон

Лаборатория химической кинетики и катализа, Тартуский госу-
дарственный университет, 202400, г. Тарту, Эстонская ССР

Поступило 21 августа 1986 г.

Приведены результаты статистической обработ-
ки данных солевых эффектов для констант скоростей
реакций с участием болаформных или цвиттерионов в
качестве реагентов или активированных комплексов
на основе модифицированной нами электростатичес-
кой теории растворов электролитов. Обсуждена воз-
можность применения полученных результатов для
уточнения механизмов реакций и распределения за-
ряда в переходном состоянии.

В предыдущих сообщениях¹⁻³ обсуждена природа первич-
ного солевого эффекта на основе недавно предложенной нами
модифицированной электростатической теории растворов элек-
тролитов^{4, 5}. Отмечено, что в случае реагентов, которые
имеют разделенные ионные заряды в их молекулах, необходим
учет несферичности распределения заряда внутри молекулы, а
также в окружающей ионной атмосфере. В настоящей работе
приведен анализ литературных данных по первичному солевому
эффекту в реакциях, где один из реагентов или пере-
ходное состояние представляет собой болаформный и цвит-

терион*.

В предыдущих работах показано, что коэффициент активности простого иона с зарядом ze выражается как следующая функция от концентрации электролита в растворе⁵:

$$\log f_1 = a_t \sqrt[3]{\nu c} + bc, \quad (1)$$

где

$$a_t = - \frac{5412,2}{\epsilon T} \quad (2)$$

является теоретической постоянной, зависящей только от температуры T (°K) и макроскопической диэлектрической проницаемости растворителя, ϵ . Величина

$$b = 0,8694 V_S \quad (3)$$

представляет собой характерный параметр для данного иона в растворе данного электролита и пропорциональна соответствующему объему переструктурирования растворителя $V_S^{4,5}$. Число ионов в молекуле электролита обозначено в уравнении (1) как ν .

Коэффициент активности болаформного иона f_B , в котором ионные заряды разделены на расстояние a_0 , дан как следующая функция концентрации электролита в растворе¹:

$$\log f_B = 2a_t \sqrt[3]{\nu c} + \frac{d_t}{a_0} (e^{-0,2993a_0 \sqrt[3]{\nu c}} - 1) + bc, \quad (4)$$

где множитель

$$d_t = \frac{73369,4}{\epsilon T} \quad (5)$$

является также теоретической постоянной, зависящей только от ϵ и T , а параметры a_t и b определены формулами (2) и (3).

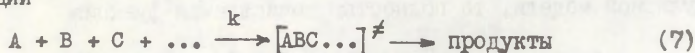
Путем применения аналогичного подхода с ранее опубликованным выводом коэффициента активности болаформного иона, можно получить следующий вид зависимости коэффициента активности цвиттериона f_z в растворе электролита:

* Болаформный ион определен как молекулярная частица, где два одноименных ионных заряда локализованы на разных атомах или группах атомов. В цвиттерионе на разных атомах или группах локализованы разноименные ионные заряды.

$$\log f_z = 2a_t \sqrt[3]{\sqrt{c}} - \frac{a_t}{a_0} (e^{-0,2993a_0 \sqrt[3]{\sqrt{c}}} - 1) + bc, \quad (6)$$

где обозначения соответствуют выше приведенному содержанию.

Теперь можно произвести вывод формулы для описания первичного солевого эффекта в реакциях с участием болаформных или цвиттерионов в качестве реагентов или переходных состояний. Согласно хорошо известному принципу Бренстеда-Бьеррума^{6, 7}, наблюдаемая константа скорости в химической реакции

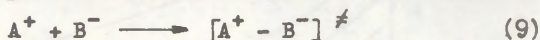


выражается как

$$\log k = \log k_0 + \log \frac{f_A f_B f_C \dots}{f_{[ABC]^\ddagger}}, \quad (8)$$

где k_0 обозначает константу скорости в стандартных условиях (бесконечно разбавленный раствор), а f_A, f_B, f_C и $f_{[ABC]^\ddagger}$ — коэффициенты активности соответствующих частиц в растворе. Исходя из природы реагентов и образующихся при реакции активационных комплексов, можно различать следующие типы реакций.

I. Реакция между разноименно заряженными ионами с образованием цвиттериона в качестве активационного комплекса:



В этом случае зависимость наблюдаемой константы скорости реакции от концентрации электролита в растворе имеет следующую форму:

$$\log k = \log k_0 + \frac{a_t}{a_0} (e^{-0,2993a_0 \sqrt[3]{\sqrt{c}}} - 1) + \Delta bc, \quad (10)$$

где $\Delta b = b_{A^+} + b_{B^-} - b_{[A^+ - B^-]^\ddagger}$ является характерной постоянной для данной реакции в растворе данного электролита. В разбавленных растворах вклад составляющей Δbc мал и обработку экспериментальных данных можно произвести со-

гласно упрощенному уравнению:

$$\log k = \log k_0 + \frac{a_t}{a_0} (e^{-0,2993a_0 \sqrt[3]{c}} - 1) \quad (\text{II})$$

Некоторые модельные кривые, соответствующие последней зависимости при различных значениях a_0 в водных растворах, приведены на рис. 1. Если оценить расстояние между зарядами a_0 в активационном комплексе на основе соответствующей молекулярной модели, то полностью вычисляемая функция

$$\log k' = \log k - \frac{a_t}{a_0} (e^{-0,2993a_0 \sqrt[3]{c}} - 1) = \log k_0 \quad (\text{I2})$$

должна оставаться постоянной при всех значениях концентрации

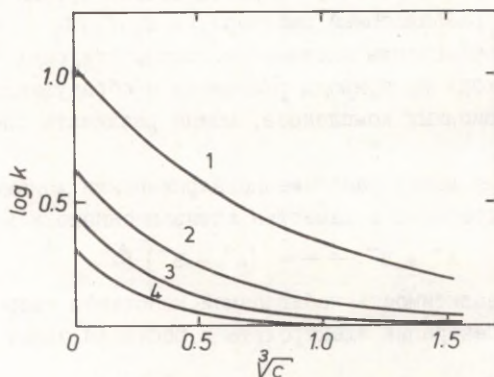


Рис. 1. Зависимость величины $\log k$ от концентрации добавленного электролита в растворе согласно уравн. (II). Разные кривые соответствуют разным значениям расстояния a_0 между ионными зарядами в цвиттерионном активационном комплексе. ($a_0 = 3\text{\AA}$ (1), $a_0 = 5\text{\AA}$ (2), $a_0 = 7\text{\AA}$ (3), $a_0 = 10\text{\AA}$ (4)).

добавленного электролита. Некоторые примеры сохранения такого постоянства, исходя из наиболее реальных молекулярных моделей для активационных комплексов, приведены на рис. 2 и 3.

Результаты нелинейной статистической обработки данных по солевому эффекту реакции типа (9) согласно уравнениям (10) и (11) приведены в табл. I (реакции № I—5).

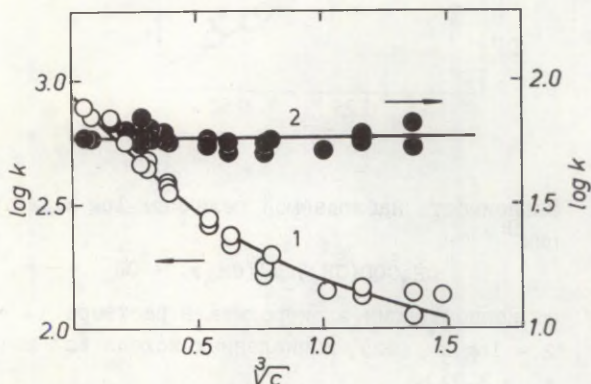
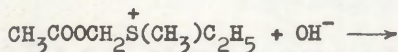
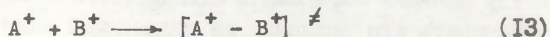


Рис. 2. Зависимость наблюдаемой величины $\log k$ для реакции⁸

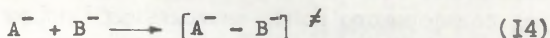


от концентрации электролита в растворе (1 — $\log k$; 2 — $\log k$ (12) вычисленный исходя из значения $a_0 = 2,6\text{\AA}$).

2. Реакция между одноименно заряженными ионами с образованием болаформного иона в качестве активационного комплекса:



или



Значение логарифма наблюдаемой константы скорости этих реакций имеет следующий вид зависимости от концентрации добавленного электролита в растворе:

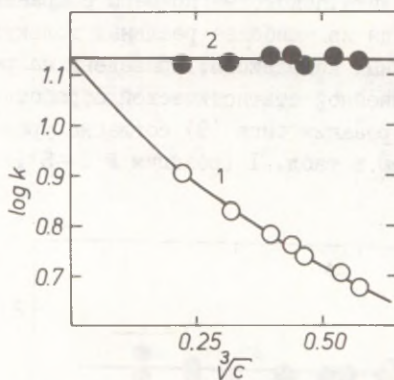
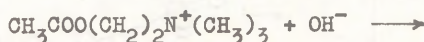


Рис. 3. Зависимость наблюдаемой величины $\log k$ для реакции



от концентрации электролита в растворе (1 - $\log k$; 2 - $\log k$ (12), вычисленных исходя из значения $a_0 = 3,7\text{\AA}$).

$$\log k = \log k_0 - \frac{a_t}{a_0} (e^{-0,2993a_0 \sqrt[3]{vc}} - 1) + \Delta bc \quad (\text{I5})$$

В сильно разбавленных растворах $\Delta bc \approx 0$ и

$$\log k = \log k_0 - \frac{a_t}{a_0} (e^{-0,2993a_0 \sqrt[3]{vc}} - 1) \quad (\text{I6})$$

В последних уравнениях все обозначения имеют ранее приведенное содержание, а величина a_0 соответствует расстоянию между ионными зарядами в активированном комплексе. Если опять же оценить его значение из подходящей молекулярной модели для болаформного иона, вычисляемая функция

$$\log k'' \equiv \log k + \frac{a_t}{a_0} (e^{-0,2993a_0 \sqrt[3]{vc}} - 1) = \log k_0 \quad (\text{I7})$$

должна оставаться постоянной при всех концентрациях добавленного электролита в растворе. Пример сохранения такого постоянного значения приведен на рис. 4. Результаты нелинейной статистической обработки данных по солевому эффекту реакций типа (I3) и (I4) приведены в табл. I (см. реакции 6—I3).

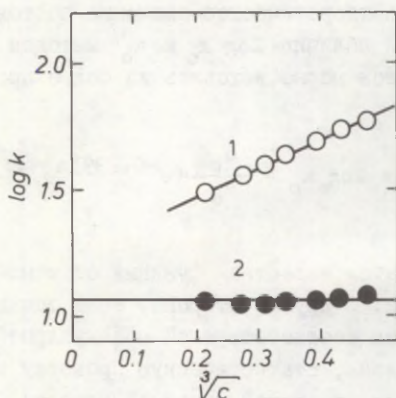
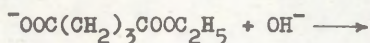
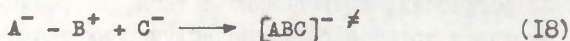


Рис. 4. Зависимость наблюдаемой величины $\log k$ для реакции I4:



от концентрации добавочного электролита в растворе (1 — $\log k$; 2 — $\log k''$ (17), вычисленный исходя из значения $a_o = 7,7\text{\AA}$.

3. Реакция между цвиттерионом и простым ионом с образованием простого иона в качестве активированного комплекса:



Наблюдаемая константа скорости этих реакций имеет следующую зависимость от концентрации электролита в растворе:

$$\log k = \log k_o + 2a_t \sqrt[3]{vc} - \frac{a_t}{a_o} (e^{-0,2993a_o \sqrt[3]{vc}} - 1) + \Delta bc \quad (20)$$

и в случае сильно разбавленных растворов

$$\log k = \log k_0 + 2a_t \sqrt[3]{\sqrt{c}} - \frac{a_t}{a_0} (e^{-0,2993a_0 \sqrt[3]{\sqrt{c}}} - 1) \quad (21)$$

где a_0 обозначает расстояние между ионными зарядами в исходном цвиттерионном реагенте.

Если использовать теоретическое значение постоянной a_t , то для нахождения величин $\log k_0$ и a_0 методом нелинейных наименьших квадратов можно исходить из более простой зависимости

$$\log k - 2a_t \sqrt[3]{\sqrt{c}} = \log k_0 - \frac{a_t}{a_0} (e^{-0,2993a_0 \sqrt[3]{\sqrt{c}}} - 1), \quad (22)$$

где в левой части имеется известная функция от концентрации электролита в растворе. С другой стороны, если оценить значение расстояния a_0 из соответствующей молекулярной модели для исходного цвиттериона, статистическую проверку теории можно сделать исходя из следующей линейной модели:

$$Y = \log k + \frac{a_t}{a_0} (e^{-0,2993a_0 \sqrt[3]{\sqrt{c}}} - 1) = \log k_0 - 2a_t \sqrt[3]{\sqrt{c}}, \quad (23)$$

где функция Y определена при каждом значении экспериментально наблюдаемой величины $\log k$. Используя наиболее вероятное распределение ионного заряда в молекуле цвиттериона для оценки расстояния a_0 , можно получить хорошую линейную зависимость функции Y (23) от кубического корня от концентрации электролита в растворе (см. рис. 5). Результаты линейной регрессии, приведенные в табл. I (реакции № I4 и I5) подтверждают хорошее согласие полученных значений $2a_t$ с соответствующими теоретическими величинами.

4. Реакция между болаформным и простым ионом с образованием простого иона в качестве активационного комплекса:

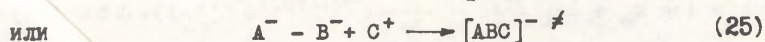
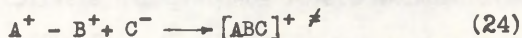


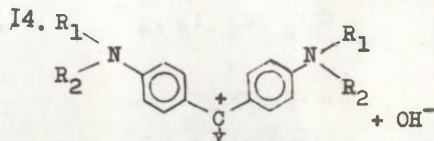
Таблица I

Результаты обработки экспериментальных данных по солевому эффекту ряда межонных реакций в водных растворах методом нелинейных наименьших квадратов

№ пп	Реакция	Добавоч- ный элек- тролит и темпе- ратура	Номер урав- не- ния	$\log k_0$	a_0	$2a_t$	r^a	s^b	s_0^b	$s_{\text{ссыл-ка}}$
I	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1.	$\text{CH}_3\text{COOCH}_2\overset{+}{\text{N}}(\text{CH}_3)_3 + \text{OH}^-$	KCl, 25°C	II	1.921 ± 0.025	2.77 ± 0.29	0	-	0.057	0.071	8
2.	$\text{CH}_3\text{COOCH}_2\overset{+}{\text{S}}(\text{CH}_3)\text{C}_2\text{H}_5 + \text{OH}^-$	KCl, 25°C	II	2.939 ± 0.016	2.61 ± 0.18	0	-	0.052	0.041	8
3.	$\text{CH}_3\text{COO}(\text{CH}_2)_2\overset{+}{\text{S}}(\text{CH}_3)\text{C}_2\text{H}_5 + \text{OH}^-$	KCl, 25°C	II	1.035 ± 0.011	4.97 ± 0.20	0	-	0.025	0.043	8
4.	$\text{CH}_3\text{COO}(\text{CH}_2)_2\overset{+}{\text{N}}(\text{CH}_3)_3 + \text{OH}^-$	KBr, 25°C	II	1.263 ± 0.012	3.86 ± 0.27	0	-	0.009	0.049	9
5.	$(\text{C}_2\text{H}_5)_3\overset{+}{\text{N}}\text{CH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5 + \text{OH}^-$	KCl, 0°C	II	0.793 ± 0.016	4.94 ± 0.49	0	-	0.017	0.071	12
6.	$^-\text{OOC}-\text{COOC}_2\text{H}_5 + \text{OH}^-$	KCl, HCl, 25°C	16	1.346 ± 0.006	3.48 ± 0.29	0	-	0.005	0.038	15

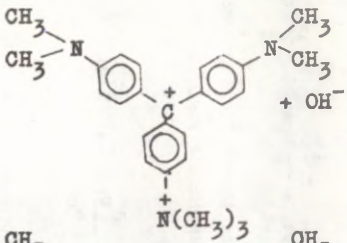
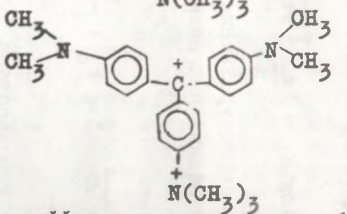
Продолжение таблицы I

I	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
7. $^-\text{OOCCH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5 + \text{OH}^-$		KCl, NaCl, 25°C	16	-0.215 ± 0.004	5.45 ± 0.21	0	-	0.003	0.028	15
8. $^-\text{OOC}(\text{CH}_2)_3\text{COOC}_2\text{H}_5 + \text{OH}^-$		NaCl, 25°C	16	-0.041 ± 0.006	5.85 ± 0.24	0	-	0.004	0.042	14
9. $^-\text{OOC}(\text{CH}_2)_4\text{COOC}_2\text{H}_5 + \text{OH}^-$		NaCl, KCl, LiCl, 25°C	16	0.221 ± 0.011	9.50 ± 0.81	0	-	0.007	0.107	15
10. R - C_6H_4 - $\text{COO}^- + \text{H}^+$ R = $\beta\text{-N}(\text{CH}_3)_3$		NaCl, 25°C	11	-1.165 ± 0.020	5.94 ± 0.34	0.583	-	0.085	0.031	13
R = $\beta\text{-SO}_3^-$		NaCl, 25°C	16	-0.031 ± 0.008	6.13 ± 0.18	0.583	-	0.013	0.021	13
R = $\beta,5\text{-(SO}_3^-)_2$		NaCl, 25°C	16	0.092 ± 0.008	6.10 ± 0.14	0.583	-	0.011	0.019	13
11. $^+\text{NH}_3\text{CH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5 + \text{H}^+ \longrightarrow$		KCl, 34.5°C	16	-5.748 ± 0.021	4.79 ± 0.34	0	-	0.016	0.098	11
		KCl, 49.5°C	16	-5.073 ± 0.025	6.18 ± 0.56	0	-	0.022	0.148	11
12. $^+\text{NH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5 + \text{H}^+ \longrightarrow$		KCl, 49.5°C	16	-4.614 ± 0.097	5.31 ± 1.63	0	-	0.082	0.350	11

I	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
		KCl, 65.5°C	16	-3.948+ ±0.035	5.46+ ±0.49	0	-	0.018	0.111	11
		KCl, 77.5°C	16	-3.607+ ±0.021	5.47+ ±0.89	0	-	0.033	0.191	11
I3. $(\text{OH}_3)_3\text{N}^+(\text{CH}_2)_2\text{COOC}_2\text{H}_5 + \text{H}^+ \rightarrow$		KBr, 49.5°C	16	-4.042+ ±0.034	5.19+ ±0.92	0	-	0.021	0.172	11
		KBr, 49.5°C	16	-3.543+ ±0.020	5.18+ ±0.47	0	-	0.019	0.116	11
<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg); margin-right: 10px;">305</div> <div style="text-align: center;"> <p>I4. </p> <p>1) $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{CH}_3$ $\text{X} = 3\text{-O}^-\text{-C}_6\text{H}_4\text{-}$</p> </div> </div>										
		NaNO_3 , 20°C	22	-0.829+ ±0.014	4.19+ ±0.41	-0.565	-	0.010	0.067	17
			23	-0.838+ ±0.017	4.9	-0.500+ ±0.033	0.9979	0.008	0.065	17
	2) $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{CH}_3$	KCl, 20°C	22	-0.284+ ±0.004	5.36+ ±0.20	-0.565	-	0.005	0.026	17

Продолжение таблицы I

I	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
	$X = 3-COO^- - C_6H_4^-$		23	$-0.282++0.007$	5.2	$-0.577++0.017$	0.9996	0.005	0.029	I7
3)	$R_1 = R_2 = CH_3$	$NaNO_3,30^\circ C$	22	$-1.871++0.016$	$5.21++0.51$	-0.590	-	0.010	0.089	I7
	$X = 4-O^- - C_6H_4^-$		23	$-1.878++0.019$	5.6	$-0.504++0.043$	0.9963	0.008	0.085	I7
*)	$R_1 = R_2 = C_2H_5$	$NaNO_3,20^\circ C$	22	$-2.333++0.009$	$3.0;5.8^r$	$-0.522++0.018$	0.9972	0.006	0.034	I7
	$X = 2,4-(SO_3^-)_2 C_6H_4^-$									
15. $R_1R_2R_3C^+ + CN^-$ <math>KCl, NaNO_3, 20^\circ C</math>										
1)	$R_1 = C_6H_5-R_2 = R_3 == 3-CH_3O, 4-O^- - C_6H_4^-$		23	$-2.723++0.017$	5.1	$-0.601+^{D}+0.043$	0.9823	0.013	0.070	I8
2)	$R_1 = R_2 = R_3 == 3-CH_3O, 4-O^- - C_6H_4^-$		23	$-4.256++0.022$	5.1	$-0.544+^E+0.055$	0.9765	0.016	0.090	I8

	I	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
16.			NaNO ₃ 35°C	28	1.109+ ±0.026	6.25+ ±1.40	-0.590	-	0.033	0.158	I7
				29	1.098+ ±0.025	5.1	-0.492+ ±0.067	0.9729	0.026	0.133	I7
17.			KCl, NaNO ₃ ; 20°C	28	0.346+ ±0.005	4.45+ ±0.20	-0.565	-	0.005	0.027	I8
				29	0.356+ ±0.007	5.1	-0.604+ ^Д ±0.017	0.9977	0.005	0.026	I8

а — коэффициент корреляции; б — стандартное отклонение;

в — относительное стандартное отклонение ($s_o = s^2/\sigma^2$, где σ^2 является дисперсией коррелируемой функции);

г — это соединение имеет два отрицательных заряда. В обработке данных использована модифицированная формула (21) с учетом двух ионных зарядов в заместителях;

д — теоретическое значение $2a_t$ для этой реакции равно -0,565.

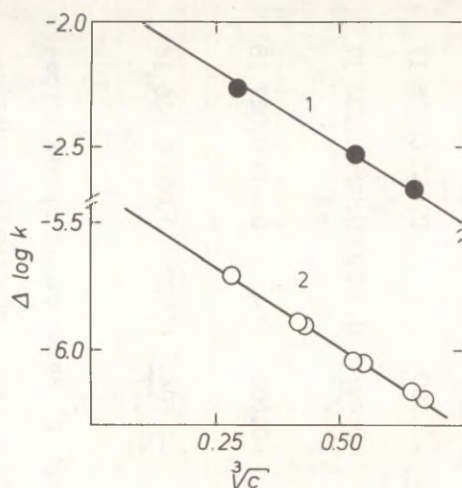


Рис. 5. Линейная зависимость функции $\Delta \log k$ (23) от кубического корня концентрации электролита в растворе (1 — реакция 15.1 в табл. I, 2 — реакция 15.4 в табл. I).

В этом случае наблюдаемая величина $\log k$ имеет следующую зависимость от концентрации электролита в растворе:

$$\log k = \log k_0 + 2a_t \sqrt[3]{c} + \frac{d_t}{a_0} (e^{-0,2993a_0 \sqrt[3]{c}} - 1) + \Delta bc \quad (26)$$

и в разбавленных растворах

$$\log k = \log k_0 + 2a_t \sqrt[3]{c} + \frac{d_t}{a_0} (e^{-0,2993a_0 \sqrt[3]{c}} - 1) \quad (27)$$

Применимость последнего уравнения может быть статистически проверена методом нелинейных наименьших квадратов согласно формуле

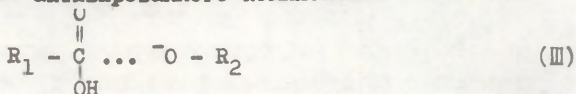
$$Z = \log k - 2a_t \sqrt[3]{c} = \log k_0 + \frac{d_t}{a_0} (e^{-0,2993a_0 \sqrt[3]{c}} - 1) \quad (28)$$

где в левой части использована функция от концентрации элек-

тролита в растворе. Если оценить из подходящей молекулярной модели расстояние между ионными зарядами в исходном болаформ-ионе, то можно использовать для статистической проверки и метод линейных наименьших квадратов согласно уравнению:

$$Y = \log k - \frac{a_t}{a_o}(e^{-0,2993a_o\sqrt[3]{\mu c}} - 1) = \log k_o + 2a_t\sqrt[3]{\mu c}, \quad (29)$$

где искомыми величинами являются $\log k_o$ и a_t . Результаты статистической обработки экспериментально наблюдаемых величин $\log k$ согласно уравнениям (28) и (29) приведены в табл. I (см. реакции I7 и I8). На основе результатов статистической обработки экспериментальных данных для разных типов межионных реакций, приведенных в табл. I, можно заключить, что используемая в данной работе модифицированная электростатическая теория растворов электролитов хорошо описывает наблюдаемые солевые эффекты. Поэтому в ряде случаев из этих данных можно получить важную информацию о структуре и распределении заряда в активационных комплексах. Наглядным примером такого подхода является интерпретация результатов, полученных для реакции щелочного гидролиза заряженных сложных эфиров (см. реакции I—5 и 6—9 в табл. I). В случае этой реакции можно предполагать одну из двух нижеприведенных структур для активированного комплекса⁸:



или



где либо R_1 , либо R_2 несут ионный заряд. Очевидно, расстояния a_o между отрицательным зарядом на реакционном центре и ионным зарядом на заместителе R_2 существенно отличаются в этих двух структурах. В случае ионного заряда, локализованного на заместителе R_1 , такое же расстояние остается практически неизменным для структур (III) и (IV). Сравнение экспериментальных значений a_o , полученных из обработки данных по первичному солевому эффекту с модельными оценками,

указывает на существование активированного комплекса в виде структуры (III).

Таблица 2

Значения межионного расстояния a_o в активированном комплексе реакции щелочного гидролиза заряженных сложных эфиров, полученные исходя из обработки экспериментальных данных и вычисленные из соответствующих модельных представлений

Номер реакции в табл. I	$a_o(\text{\AA})$ (эксп.)	$a_o(\text{\AA})$	
		модельная структура III	модельная структура IV
I	2.77 ± 0.29	2.4	4.7
2	2.61 ± 0.18	2.6	4.9
3	4.97 ± 0.20	4.0	6.4
4	3.86 ± 0.27	3.7	6.2
5	4.94 ± 0.49	4.7	4.7
7	3.48 ± 0.29	3.3	3.3
8	5.45 ± 0.21	4.8	4.8

Для всех реакций наблюдается хорошее согласие между экспериментально определенными значениями a_o и соответствующими модельными оценками (см. рис. 6).

В случае реагентов или активированных комплексов, где ионный заряд непосредственно связан с ароматическим ядром, модельные расчеты затруднены из-за возможности прямого полярного резонанса заряженного заместителя с π -электронной системой. В результате может произойти значительная делокализация ионного заряда и в результате обработки данных по первичному солевому эффекту получают некоторое эффективное значение межионного расстояния, a_o . Следует отметить, что это значение a_o может не соответствовать реальной ситуации в изучаемом болаформном или цвиттерине. Поэтому может оказаться желательным независимое теоретическое исследование

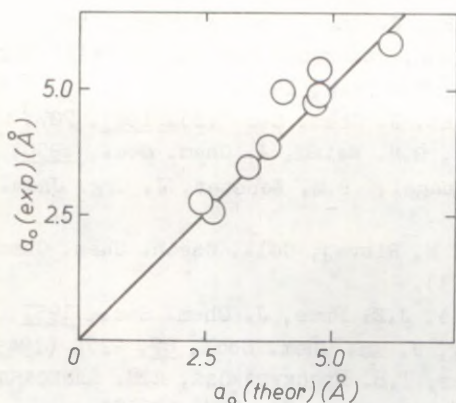


Рис. 6. Зависимость между расстояниями a_o , полученными из обработки экспериментальных данных и вычисленными исходя из структуры III для активационного комплекса реакции щелочного гидролиза заряженных сложных эфиров.

распределения заряда в таких частицах методами квантовой химии и последующее сравнение с экспериментально наблюдаемыми солевыми эффектами.

Несмотря на указанную проблему следует признать, что данные по первичному солевому эффекту в межионных реакциях являются важным источником информации о механизмах реакции и структуре активированных комплексов (переходных состояний).

Литература

1. М.М. Карельсон, этот журнал, 23, 230, (1986).
2. М.М. Карельсон, этот журнал, 22, 388 (1985).
3. М.М. Карельсон, этот журнал, 22, 373 (1985).
4. М.М. Карельсон, этот журнал, 21, 160 (1984).
5. М.М. Карельсон, этот журнал, 22, 361 (1985).
6. J.N. Brønsted, Z. phys. Chem., 102, 69 (1922).
7. N. Bjerrum, Z. phys. Chem., 108 82 (1924).

8. Я.Л. Ярв, этот журнал, 17, 38 (1980).
9. M.R. Wright, J. Chem. Soc. (B), 1968, 545.
10. K.J. Johnson, Numerical Methods in Chemistry, Marcel Dekker, Inc., New York, 1980.
11. M.R. Wright, J. Chem. Soc. (B), 1969, 707.
12. R.P. Bell, G.M. Waind, J. Chem. Soc., 1950, 1979.
13. A.J. Hoefnagel, B.M. Wepster, J. Org. Chem., 47, 2318 (1982).
14. V. Holba, M. Rievaj, Coll. Czech. Chem. Commun., 38, 3283 (1973).
15. J.I. Hoppé, J.E. Prue, J. Chem. Soc., 1957, 1775.
16. E.J. King, J. Am. Chem. Soc., 67, 2178 (1945).
17. В.В. Синев, Т.В. Проскурякова, А.В. Александр, О.Ф. Гинзбург. Ж. орг. химии, 14, 1676 (1978).
18. В.В. Синев, Т.А. Николова, О.Ф. Гинзбург. Ж.орг. химии, 18, 2356 (1982).

УДК: 547.577.15

КИНЕТИКА ДИССОЦИИАЦИИ АНТАГОНИСТОВ ИЗ КОМПЛЕКСА
С МУСКАРИНОВЫМ РЕЦЕПТОРОМ МОЗГА КРЫС

Р.Г. Силлард, Ю.Л. Лангел, Я.Л. Ярв
Тартуский государственный университет, г. Тарту,
Н.Н. Годовиков, Н.А. Карданов, С.А. Трифонова,
Институт элементоорганических соединений АН СССР, г. Москва

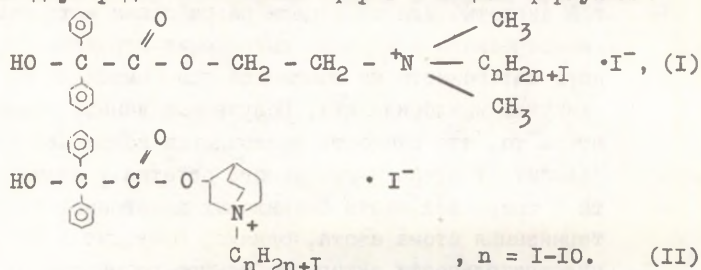
Поступило 15 октября 1986 г.

Изучена кинетика диссоциации комплекса мускаринового рецептора со сложными эфирами бензиловой кислоты. Для этой цели разработана методика кинетического измерения вытеснения нерадиоактивного антагониста из комплекса при помощи $L-[^3H]$ -хинуклдинилбензилата. Полученные данные указывают на то, что скорость диссоциации комплекса не зависит от длины n-алкильного остатка у атома азота в спиртовой части бензиловых антагонистов. Ква-тернизация атома азота, однако, приводит к потере чувствительности активного центра рецептора относительно структурных особенностей спиртовой части молекул лиганда.

Высокоэффективные антагонисты мускаринового рецептора характеризуются малой скоростью диссоциации их комплекса с рецептором разных тканей^{1, 2}. Эту особенность необходимо учесть при проведении экспериментов, требующих соблюдения условия равновесия. Примером служат опыты по определению равновесных констант диссоциации методом вытеснения³. На основании приведенных в литературе данных для процесса диссоциации комплекса мускаринового рецептора мозга крыс с

L-хинуклидинилбензилатом при 25°C^2 , можно рассчитать время полупревращения $\tau_{1/2} = 9,6$ часов. В таком случае, для достижения равновесного состояния в опытах требуется инкубация рецептор-лигандного комплекса около 5 периодов полупревращения, что составляет 48 часов. При такой длительности опытов необходимо учесть спонтанную денатурацию рецептора. Поэтому очевидно, что корректное определение равновесных констант диссоциации комплекса таких медленно диссоциирующих лигандов с мускариновым рецептором требует специальных экспериментальных подходов, основанных на исследовании кинетических закономерностей изучаемой системы. При этом в каждом случае следует отдельно определять константу скорости диссоциации комплекса мускаринового рецептора с изучаемым лигандом, либо установить закономерности влияния строения реагента на этот параметр.

Целью настоящей работы является разработка метода и экспериментальное определение констант скорости диссоциации для двух рядов бензиловых эфиров с общими формулами:



Экспериментальная часть

Антагонисты с общими формулами (I) и (II) синтезированы в Институте элементоорганических соединений АН СССР, как описано раньше⁴. L-[³H]-хинуклидинилбензилат (38 Ки/ммоль) — препарат фирмы "Amersham", Англия. Опыты с применением нерадиоактивного и меченного тритием препаратов N-метилпиперидинилбензилата были проведены в лаборатории профессора Т. Бартфая на кафедре биохимии Стокгольмского университета и использованные препараты описаны в работах^{5, 6}. Сульфат атропина — препарат фирмы "Merck", ФРГ, бычий сывороточный альбумин — препарат фирмы "Reanal",

ВНР, остальные реактивы отечественного производства марки ос. ч. или ч.д.а. использованы без дополнительной очистки. Реагенты для определения радиоактивности проб соответствовали марке "сцинтилляционный".

Методика выделения мембранного препарата мускаринового рецептора коры больших полушарий мозга крыс и определения связанного с мембранами радиоактивности методом фильтрации проб на стекловолоконистых фильтрах GF/B фирмы "Whatman", (Англия), подробно описана в работе⁷. Обработку фильтров и измерение связанной с ними радиоактивности на бета-счетчике LS 7500 фирмы "Beckman", США, проводили, как описано раньше⁷. Все опыты проводили при 25°C в 0,05 М К-фосфатном буфере pH 7,4, приготовленной в тридистиллированной воде. Концентрацию белка определяли методом Лоури, используя бычий сывороточный альбумин в качестве стандарта⁸.

Кинетику диссоциации радиоактивных антагонистов из комплекса с рецептором измеряли методом их вытеснения избытком нерадиоактивного лиганда, как описано в², разбавляя дополнительно инкубационную смесь в 500–1000 раз с целью уменьшения концентрации радиолиганда в реакционной смеси.

В опытах для вытеснения L - [³H]-хиноклидинилбензилата и [³H]-N - метилпиперидинилбензилата использовали 100 мкМ раствор атропинсульфата.

В опытах с немечеными антагонистами мембранный препарат мускаринового рецептора инкубировали с избытком этих реагентов в течение 5 часов. Этого времени достаточно для совершения реакции комплексообразования, что было определено отдельно. Из этой реакционной смеси отбирали аликваты по 20–30 мкл и добавляли к термостатированной при 25°C реакционной смеси с объемом 21 мл, содержащей 1 нМ L - [³H]-хиноклидинилбензилата. Через определенные промежутки времени из этой реакционной смеси отбирали пробы по 1–2 мл и фильтровали на стекловолоконистых фильтрах. Затем фильтры промывали холодным 0,1 М раствором хлористого натрия по 5 раз по 4 мл. Для определения неспецифического связывания L - [³H]-хиноклидинилбензилата опыты проводили в тех же условиях, однако, в реакционную смесь предварительно добавляли 100 мкМ атропинсульфата. Константы скорости $k_{\text{дисс}}$ рассчитали из зависи-

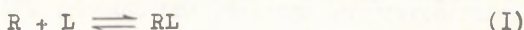
мости величины специфического связывания радиолиганда от времени:

$$B = B_{nc} + B_{сп} (1 - e^{-k_{дисс} \cdot t})$$

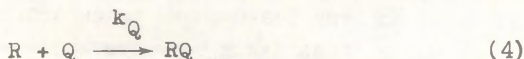
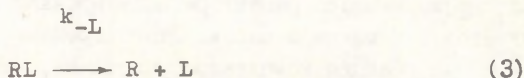
методом нелинейных наименьших квадратов на ЭВМ "Nord 100", Норвегия. Программа составлена по аналогии с описанным в работе⁹ подходом.

Результаты и их обсуждение

Разбавление реакционной смеси, содержащей комплекс мускаринового рецептора с нерadioактивным антагонистом (RL), и добавление в эту систему избытка радиоактивного лиганда Q, приводит к диссоциации этого комплекса и связыванию радиоактивной метки с освобождающимися активными центрами рецептора. Такую систему конкуренции двух лигандов за один связывающий центр рецептора можно описать следующей схемой:



При смещении этой равновесной системы в сторону образования комплекса RQ, осуществимой, например, в результате сильного разбавления раствора RL и добавлением большого избытка Q, можно представить в виде двух, последующих друг другу процессов:



Если константа скорости последнего процесса (4) больше константы скорости диссоциации комплекса RL (3), то

$$k_Q > k_{-L}, \quad (5)$$

можно по включению Q в препарат рецептора контролировать реакцию диссоциации лиганда L из его комплекса с рецептором.

При этом имеем: $\frac{d[RQ]}{dt} = k_{-L} \cdot [RL]$. (6)

Соблюдение условий (5) и (6) открывает практическую возможность исследования кинетики диссоциации рецептор-лигандного комплекса в случае различных лигандов L , применяя в качестве "репортерного" лиганда только одно вещество с радиоактивной меткой, что значительно упрощает проведение соответствующего эксперимента.

В настоящей работе использовали в качестве радиоактивного "репортерного" лиганда коммерческий препарат $L - [^3H]$ -хиноклидинилбензилата ($L - [^3H]$ -ХНБ), кинетика связывания которого с мембранным мускариновым рецептором мозга крыс ранее подробно изучена². По данным работы², наблюдаемая константа скорости связывания этого радиолиганда с рецептором равна $k_{\text{набл}} = (6,4 \pm 0,5) \cdot 10^{-3} \text{ с}^{-1}$ при $1 \text{ нМ } L - [^3H]$ -ХНБ (см. рис. 1). Если, однако, опыты проводили с применением комплекса рецептора с немеченными препаратами рядов (I) и (II), а также с немеченными N-метилпиперидинилбензилатом, наблюдаемая скорость ассоциации $L - [^3H]$ -ХНБ с рецептором значительно уменьшалась. Это уменьшение скорости проиллюстрировано на рис. 1, где приведены соответствующие данные для комплекса холинбензилата с мускариновым рецептором. Уменьшение скорости связывания $L - [^3H]$ -ХНБ с мембранами свидетельствует о том, что скорость-определяющая стадия в этом процессе - диссоциация комплекса нерадиоактивного лиганда с рецептором. Такой вывод подтверждается двумя фактами. Во-первых, наблюдаемая кинетика связывания радиоактивного "репортерного" лиганда не зависит от его концентрации, как и от степени разбавления мембранного препарата в реакционной смеси. Следовательно, скорость изучаемого процесса лимитируется мономолекулярной реакцией диссоциации комплекса рецептор-лиганд. Во-вторых, были проведены опыты, где непосредственно измеряли кинетику диссоциации комплекса рецептора с радиоактивным препаратом N-метилпиперидинилбензилата и сопоставляли эти результаты с данными, полученными применением нерадиоактивного лиганда и $L - [^3H]$ -ХНБ в качестве "репортерного" радиолиганда. Результаты этих опытов иллюстрированы на рис. 2. При этом получали значения $k_{\text{дисс}} = (6,7 \pm 0,8) \cdot 10^{-4} \text{ с}^{-1}$ для радиоактивного N-метилпиперидинилбензилата и $k_{\text{дисс}} = (6,3 \pm 0,6) \cdot 10^{-4} \text{ с}^{-1}$ для

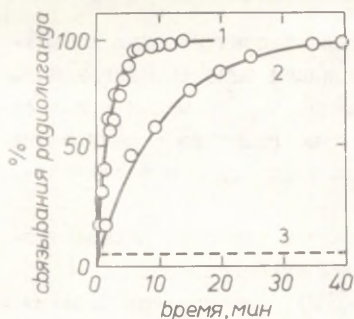


Рис. 1. Кинетика связывания 1 нМ L-[^3H]-хинуклидинилбензилата с мембранным препаратом мозга крыс (0,05 М К-фосфатный буфер, pH=7,4, 25°C): 1 -- нативные мембраны, 2 -- после предварительной инкубации мембран с $2,2 \cdot 10^{-7}$ М холинбензилатом (5 час) и разбавления этой смеси в 700 раз, 3 -- уровень неспецифического связывания.

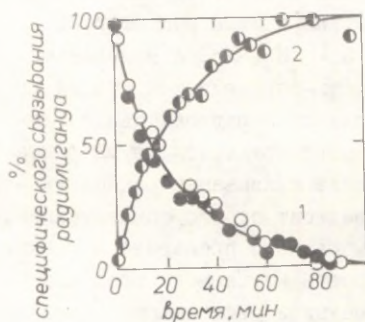


Рис. 2. 1 -- Кинетика диссоциации [^3H]-N-метилпиперидинилбензилата из комплекса с мускариновым рецептором мозга крыс: (○) -- кинетика диссоциации, инициируемая разбавлением реакционной смеси, (●) -- кинетика диссоциации, инициируемая разбавлением реакционной смеси и добавлением 100 мкМ атропинсульфата. 2 -- Кинетика специфического связывания L-[^3H]-хинуклидинилбензилата после предварительной инкубации мембран с нерадиоактивным препаратом N-метилпиперидинилбензилата. 0,05 М К-фосфатный буфер, pH= 7,4, 25°C.

немеченного препарата, исследованного с помощью L- ^{3}H]-ХНБ в качестве "репортерного" лиганда. Совпадение этих констант скорости свидетельствует в пользу применимости методики с "репортерным" лигандом для исследования кинетики диссоциации комплексов мускаринового рецептора с антагонистами.

Полученные значения $k_{\text{дисс}}$ для бензилатов серий (I) и (II) приведены в табл. I. Оказывается, что константа скорости

Таблица I

Константы скорости диссоциации $k_{\text{дисс}}$ антагонистов ряда (I) и (II) из комплекса с мускариновым холинорецептором при 25°C в 0,05 М К-фосфатном буфере с pH 7,4

$k_{\text{дисс}} \cdot 10^3, \text{с}^{-1}$		
n	I	II
0	$3,2 \pm 0,3$	$0,020 \pm 0,004$
I	$1,9 \pm 0,1$	$2,0 \pm 0,3$
2	$2,4 \pm 0,2$	$2,4 \pm 0,5$
3	$2,5 \pm 0,4$	$3,0 \pm 0,4$
4	$2,7 \pm 0,2$	$2,9 \pm 0,4$
5	$3,2 \pm 0,3$	$3,0 \pm 0,2$
6	$2,7 \pm 0,2$	$3,9 \pm 0,2$
7	$3,1 \pm 0,3$	$2,7 \pm 0,2$
8	$3,1 \pm 0,2$	$3,9 \pm 0,3$
9	$3,5 \pm 0,2$	$3,6 \pm 0,3$
10	$2,9 \pm 0,2$	$4,1 \pm 0,5$

диссоциации этих лигандов в пределах точности их определения не зависит от варьирования длины n-алкильного заместителя у атома азота в спиртовой части бензиловых эфиров (рис.3).

Кроме того, из таблицы I видно, что в случае изученных n-алкильных производных с четвертичным атомом азота $k_{\text{дисс}}$ не зависит также от строения углеводородного скелета спиртовой части, разделяющей атом азота от сложноэфирной группы в молекуле антагониста. Как видно из формул (I) и (II), соответ-

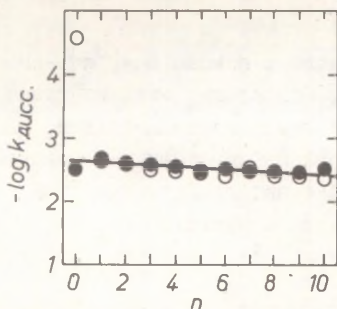


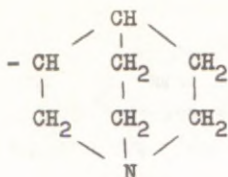
Рис. 3. Зависимость $\log k_{\text{дисс}}$ от длины n -алкильного остатка у атома азота в соединениях I - (●) и II - (○). 0,05 М К-фосфатный буфер, pH = 7,4, 25°C.

ствующие структурные фрагменты в производных N,N -диметил-2-аминоэтилбензилата (I) и хинуклидинилбензилата (II) в значительной степени различаются.

Если, однако, сопоставить данные для лигандов с третичным атомом азота в спиртовой части N,N -диметил-2-аминоэтилбензилата (I, $n = 0$), N -метилпиперидинилбензилата и хинуклидинилбензилата (II, $n = 0$), обнаруживается значительная зависимость скорости диссоциации комплекса от строения углеводородного скелета. По мере увеличения сложности структуры при переходе от полиметиленовой цепочки и алициклической структуры к бициклической структуре, скорость диссоциации значительно уменьшается.

Физико-химическим фактором, определяющим эту зависимость, могут быть либо некоторые геометрические характеристики этого фрагмента молекул антагониста, либо гидрофобность заместителя. По имеющимся данным трудно провести выбор между этими вариантами, тем более, что до сих пор не существует общепризнанной единой системы для оценки геометрических особенностей сложных разветвленных заместителей. Эффективный параметр гидрофобности таких заместителей рассчитать значительно легче, особенно в случае, когда можно пренебрегать эффектом третичного атома азота, так как этот структурный фрагмент является общим для всех следующих радикалов:





$$\pi_{\text{эфф}} = 3,27 \quad (V)$$

Для расчета $\pi_{\text{эфф}}$ этих групп применяли метод фрагментов (f -константы), как описано в ¹⁰.

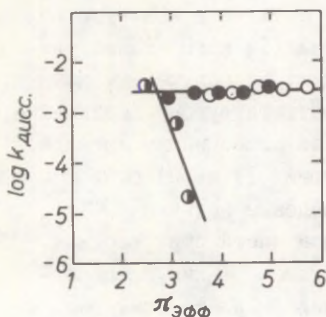


Рис. 4. Зависимость $\log k_{\text{дисс}}$ от эффективной гидрофобности спиртовой части соединений I—V. (○) — соединения с триалкил-аммониевым атомом (III, IV, V). (●) — соединения ряда I и (○) — соединения ряда II с тетраалкил-аммониевым атомом.

По приведенной на рис. 4 зависимости $\log k_{\text{дисс}}$ от $\pi_{\text{эфф}}$ видно, что по мере увеличения гидрофобности спиртовой части бензилатов с третичным атомом азота скорость диссоциации комплекса RL уменьшается:

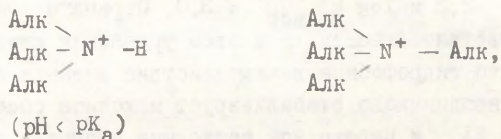
$$\log k_{\text{дисс}} = \log k_{\text{дисс}}^0 + \varphi \pi_{\text{эфф}}, \quad (7)$$

где $\varphi = -2,2$ и $\log k_{\text{дисс}}^0 = 3,0$. Отрицательный знак параметра чувствительности φ в этом уравнении свидетельствует о том, что гидрофобное взаимодействие лиганда с активным центром неодинаково стабилизирует исходное состояние (т.е. комплекс RL) и переходное состояние процесса диссоциации комплекса. При этом соответствующий эффект в исходном комплексе значительно превышает эффект в переходном состоянии. Следовательно, можно высказать предположение о том, что в процессе диссоциации этих лигандов имеют место конформацион-

ные изменения рецепторного белка, приводящие к разрушению соответствующих гидрофобных участков активного центра.

Обращает на себя внимание также факт, что абсолютная величина ψ -константы значительно превышает единицу, соответствующей простой экстракционной модели гидрофобного взаимодействия^{11, 12}. Последний факт можно также объяснить исходя от представления о значительной роли конформационных перестроек в процессах взаимодействия лигандов с активным центром рецептора.

По мере роста длины алкильного остатка в молекуле N-алкилзамещенных антагонистов серий (I) и (II) также увеличивается гидрофобность этих молекул. По полученным данным, однако, видно, что в этом случае соответствующий физико-химический фактор не влияет на скорость диссоциации лиганда. Кроме того, в случае производных серий (I) и (II) с $n \geq 1$ наблюдается также практическое совпадение величин $k_{\text{дисс}}$, хотя строение заместителя в спиртовой части этих сложных эфиров различается так же, как в случае L-хинуклидинил-бензилата и N,N-диметил-2-аминоэтилбензилата (см. рис. 4). Следовательно, переход от третичных алкиламмониевых производных к четвертичным алкиламмониевым соединениям приводит к коренным изменениям в механизме взаимодействия антагонистов с активным центром рецептора. При этом теряется чувствительность к гидрофобному взаимодействию. Вероятно, решающим фактором является изменение кислотно-основных свойств при переходе от третичных алкиламмониевых структур к четвертичным алкиламмониевым структурам:



Интересно добавить, что разное поведение мускариновых антагонистов с третичной и четвертичной структурами алкиламмониевых группировок обнаружено и в ряде других работ^{13, 14}, однако, на кинетические аспекты взаимосвязи строения и ак-

тивности этих лигандов впервые обращено внимание в данной работе.

Таким образом, полученные результаты выявляют весьма разные зависимости скорости диссоциации от строения антагонистов в случае соединений с третичным и четвертичным атомами азота в спиртовой части сложного эфира. Для более детальной характеристики этих различий следует, однако, значительно расширить серию изучаемых реагентов, а также охватить анализом другие параметры, как например, кинетические параметры ассоциации разных лигандов с рецептором и равновесные константы диссоциации рецептор-лигандного комплекса.

Литература

1. M.I. Schimerlik, R.P. Searles, Biochemistry, 19, 3407 (1980).
2. Р.Г. Силлард, Я.Л. Ярв, Т. Бартфай, Биол. мембраны, 2, 426 (1985).
3. H.J. Motulsky, L.C. Mahan, Mol. Pharmacol., 25, 1 (1984).
4. Н.Н. Годовиков, Н.А. Дорофеева, Н.А. Карданов, С.А. Трифонова, С.А. Шелковников, Хим.-фарм. журнал, 19, 1060 (1985).
5. Y. Kloog, M. Sokolovsky, Brain Res., 144, 31 (1978).
6. S. Avissar, Y. Egozi, M. Sokolovsky, Neuroendocrinology, 32, 303 (1981).
7. Ю.Л. Лангел, А.А. Ринкен, Л.Я. Тяхепылд, Я.Л. Ярв, Нейрохимия, 1, 343 (1982).
8. O.H. Lowry, N.J. Roseborough, A.L. Farr, R.J. Randall, J. Biol. Chem., 193, 265 (1951).
9. G.N. Wilkinson, J. Biochem., 80, 324 (1961).
10. R.F. Rekker, H.M. de Kont, Eur. J. Med. Chem., 14, 479 (1979).
11. А.А. Клясов, И.В. Березин, Ферментативный катализ. Изд-во МГУ Москва, 1980.
12. А.А. Аавиксаар, Я. Парис, В.А. Пальм, Реакц. способн. орган. соедин., 8, 817 (1971).
13. J.-H. Lee, E.E. El-Fakahany, J. Pharmacol. Exp. Ther., 3, 707 (1985).
14. D. Goldstein, J.H. Brown, Fed. Proc., 44, 1827 (1985).

СОДЕРЖАНИЕ

П.Ф. Сикк, М.М. Пейпс, В.С. Абдукаха- ров, А.А. Абдувахобов, А.А. Аавик- саар. Зависимость влияния уходящей группы ин- гибитора от строения его фосфорильной части в ре- акции химотрипсина с тисофизами О-алкил-метилфос- фоновых кислот.	253
М.М. Пейпс, П.Ф. Сикк, А.А. Аавиксаар. Гидрофобное взаимодействие в активных центрах се- риновых протеиназ из термоактиномицетов.	263
В.А. Дадади, А.И. Костин, Т.М. Зуба- рева. Исследование кинетики реакции аминолита ацилгалогенидов, катализируемого 4- N,N -диметил- аминопиридином в хлористом метиле.	274
А.И. Костин, В.А. Дадади. Раздельное опре- деление реакционной способности ионов и ионных пар ацетилимидазолиевых солей в реакции аминолита за.	291
А.Ф. Попов, А.А. Матвеев, Ж.П. Писку- нова. Закономерности пространственного влия- ния ацильных групп в алифатических аминах на их реакционную способность.	302
А.Ф. Попов, А.А. Матвеев, Ж.П. Писку- нова. Факторы, влияющие на скорость образова- ния алкенов при взаимодействии алкилиодидов с алифатическими аминами.	309
А.А. Матвеев, Ж.П. Пискунова, А.Ф. Попов. Механизм реакции дегидрогалогене- ирования алкилгалогенидов под действием алифати- ческих аминов.	316
И.Ф. Перепичка, А.Ф. Попов, Л.И. Кос- тенко, Ж.П. Пискунова. Электронное влияние структуры морфолина на его нуклеофиль- ность.	320
Н.К. Ченас, Ю.Ю. Канапенене, Ю.Ю. Ку- лис. Кинетические закономерности окисления NADH хинойдными соединениями.	329
М.М. Карельсон. Первичный солевой эффект для диссоциации дикарбоновых кислот.	340
М.М. Карельсон. Первичный солевой эффект и реакционная способность болаформных и цвиттерио- нов.	355
Р.Г. Силлард, Ю.Л. Дангел, Я.Л. Ярв, Н.Н. Годовиков, Н.А. Карданов, С.А. Трифонова. Кинетика диссоциации ан- тагонистов из комплекса с мускариновым рецептором мозга крыс.	373